

Funktionelle Veränderungen der
Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse
bei der unterernährten Ratte -
Ein Tiermodell zur Anorexia Nervosa

D i s s e r t a t i o n
der Fakultät für Biologie der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
BARBARA SPYRA
aus München

Ottobrunn 1982



1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Cleve
 2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. W. Gutensohn
- Sondervotum: Dr. med. habil. K.M. Pirke

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Juli 1982

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Psychiatrie München, Abteilung Klinische Chemie in der Zeit von August 1979 bis September 1981 durchgeführt.

Herrn Dr. med. habil. Karl Martin Pirke gilt mein besonderer Dank dafür, daß ich diese Arbeit unter seiner Anleitung anfertigen durfte.

Herrn Prof. Dr. med. H. Cleve, Institut für Anthropologie und Humangenetik der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich sehr für sein Interesse und seine Ratschläge, sowie für die Vertretung dieser Arbeit vor der Fakultät.

Herrn Prof. Dr. Dr. D. Stamm danke ich für die Aufnahme und Förderung in der Abteilung Klinische Chemie des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie.

Die Ergebnisse der Arbeit sind teilweise veröffentlicht worden:

K.M. Pirke und B. Spyra

INFLUENCE OF STARVATION ON TESTOSTERONE-LUTEINIZING HORMONE FEEDBACK IN THE RAT

Acta endo. 96,413-421, 1981

K.M. Pirke, I. Bofilias, B.Spyra, H. Langhammer, H.W. Pabst

CAPILLARY BLOOD FLOW IN THE TESTES AND TESTOSTERONE SECRETION IN THE STARVED RAT

Experientia 38,516-517, 1982

K.M. Pirke und B. Spyra

WHAT CAN WE LEARN FROM ANIMAL EXPERIMENTS ABOUT HYPOTHALAMIC DYSFUNCTION IN ANOREXIA NERVOSA

II World Congress of Biological Psychiatry Stockholm, Abstracts S 299

B. Spyra und K.M. Pirke

BINDING OF ³H-CLONIDINE AND ³H-WB4101 TO THE PRE- AND POSTSYNAPTIC ALPHA-ADRENOCEPTORS OF THE BASAL HYPOTHALAMUS OF THE STARVED MALE RAT
Brain Research, Accepted 4/1/1982.

Meiner Mutter

Hergestellt in der Arbeitstherapie des

MPIP im August 1982

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	Einleitung und Problemstellung.....	1
2.	Durchgeführte Versuche und deren Ergebnisse.....	11
2.1.	Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden Achse bei der adulten, männlichen Wistar-Ratte...	11
2.1.1.	Veränderungen des Gonadenhormons Testosteron und des Gonadotropins LH.....	12
2.1.1.1.	Veränderungen des Testosteronspiegels im Serum im Verlauf von einer Woche Nahrungskarrenz	12
2.1.1.2.	Veränderungen der LH-Konzentrationen bei Mangelernährung ..	15
2.1.1.2.1.	Veränderungen der LH-Konzentrationen im Serum im Verlauf von einer Woche Nahrungskarrenz	15
2.1.1.2.2.	Bestimmung der LH-Konzentration in der Hypophyse nach Mangelernährung	15
2.1.2.	Funktionelle Überprüfung der beteiligten endokrinen Drüsen.....	17
2.1.2.1.	Gonadenfunktion nach Mangelernährung.....	17
2.1.2.1.1.	Stimulation der Gonaden mit HCG.....	17
2.1.2.1.2.	Messung der kapillaren Durchblutung der Testes	19
2.1.2.2.	Stimulation der Hypophyse mit synthetischem LHRH.....	22
2.1.3.	Veränderungen der LHRH-Konzentrationen in bestimmten hypothalamischen Nuclei durch Mangelernährung.....	25
2.1.4.	Feedback-Schwelle der Hypothalamus-Hypophysen- Gonaden-Achse	
2.1.4.1.	Einstellung konstanter Testosteronspiegel mittels Implantation von Testosteronkapseln nach Kastration.....	29
2.1.4.2.	Ermittlung der Feedback-Schwelle nach fünf Tagen Nahrungskarrenz	32

2.2.	LHRH-Sekretion und Einfluß katecholaminerger Neuronen im Hungerzustand.....	34
2.2.1.	Bestimmung des Umsatzes von Dopamin und Noradrenalin durch selektive Katecholamin-Syntheseblockade mit α -Methyl-p-Tyrosin.....	35
2.2.1.1.	Katecholaminspiegel- und Umsatz nach fünf Tagen Nahrungskarrenz	38
2.2.1.2.	Veränderungen des Katecholaminspiegels- und Umsatzes im Verlauf von 5 Tagen Nahrungskarrenz	42
2.2.2.	Pharmakologische Beeinflussung der LH-Sekretion.	44
2.2.2.1.	Wirkung von DOPA, DOPS und Clonidin auf die LH-Sekretion nach fünf Tagen Nahrungskarrenz	44
2.2.2.2.	Wirkung von DOPA und DOPS bei künstlich eingestellten Testosteronspiegel nach 5 Tagen Nahrungskarrenz.....	45
2.2.2.3.	Beeinflussung der LHRH-Sekretion mit Prostaglandin E ₂ nach 3 und 5 Tagen Nahrungskarrenz	46
2.2.2.4.	Beeinflussung der LHRH-Sekretion mit Prostaglandin E ₂ in Testosteron-substituierten Ratten nach 5 Tagen Nahrungskarrenz	48
2.2.3.	Veränderungen der Alpha-Adrenozeptoren des medialen, basalen Hypothalamus durch fünf-tägige Nahrungskarrenz.....	50
2.2.3.1.	Veränderungen der postsynaptischen α -noradrenergen Rezeptoren des basalen Hypothalamus durch Mangelernährung.	51
2.2.3.2.	Veränderungen der präsynaptischen α -noradrenergen Rezeptoren des basalen Hypothalamus durch Mangelernährung.	57
2.3.	Bestimmung der Konzentration von Glukose, Natrium, Kalium und Kalzium im Rattenserum nach fünf Tagen Nahrungskarrenz.....	62

3.	Diskussion	
3.a.	Zusammenhänge zwischen Fortpflanzung und Ernährung	63
3.1.	Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse bei der männlichen Ratte durch Mangelernährung.....	65
3.1.1.	Veränderungen von Gonadenhormon und Gonadotropin	65
3.1.1.1.	Veränderungen der Testosteron- und LH-Konzentrationen im Serum durch Nahrungskarrenz.....	65
3.1.1.2.	LH-Konzentration in der Hypophyse nach Mangelernährung...	66
3.1.2.	Funktionelle Überprüfung der beteiligten endokrinen Drüsen.....	66
3.1.2.1.	Überprüfung der Hypophysenfunktion	67
3.1.2.2.	Überprüfung der Gonadenfunktion.....	68
3.1.2.2.1.	Reaktion der Testes auf die HCG-Stimulation.....	69
3.1.2.2.2.	Kapillare Durchblutung der Testes nach Mangelernährung...	71
3.1.3.	LHRH-Konzentrationen in bestimmten hypothalamischen Nuclei nach Mangelernährung.....	73
3.1.4.	Veränderungen der Feedback-Schwelle der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse durch Nahrungskarrenz.....	76
3.2.	LHRH-Sekretion und Einfluß katecholaminerger Neuronen im Hungerzustand.....	78
3.2.1.	Veränderungen von Katecholaminspiegel-und Umsatz	78
3.2.2.	Pharmakologische Beeinflussung der LHRH-bzw. LH-Sekretion.	84
3.2.2.1.	Wirkung von DOPA, DOPS und Clonidin auf die LH-Sekretion..	84
3.2.2.2.	Wirkung von Prostaglandin E ₂ auf die LH-Sekretion.....	89
3.2.3.	Veränderungen der Alpha-Adrenozeptoren	93
3.3.	Konzentration von Glukose, Natrium, Kalium und Kalzium im Serum nach fünf Tagen Nahrungskarrenz.	98

4.	Material und Methoden	
4.1.	Versuchstiere: Art, Geschlecht, Alter, Herkunft Haltung, Ernährung, Genehmigung	99
4.2.	Manipulationen an den Tieren	100
4.2.1.	Injektionen	100
4.2.2.	Operationen	100
4.2.2.1.	Kastrationen	100
4.2.2.2.	Implantation von Silikonkapseln	101
4.2.3.	Entnahme von Blut und Gehirnteilen	101
4.3.	Bestimmungen	
4.3.1.	Quantitative Bestimmung von Testosteron	103
4.3.2.	Quantitative Bestimmung von LH	104
4.3.3.	Quantitative Bestimmung von LHRH	105
4.3.4.	Quantitative Bestimmung der Katecholamine Dopamin und Noradrenalin	105
4.3.5.	Quantitative Bestimmung von Glukose aus dem Blut	107
4.3.6.	Quantitative Bestimmung von Na^+ , K^+ und Ca^{++} aus dem Serum	108
4.3.7.	Messung der kapillaren, testikulären Durchblutung mit $^{133}\text{Xenon}$	108
4.3.8.	Bestimmung der Alpha-Adrenozeptoren	
4.3.8.1.	Bestimmung der Kapazität und Affinität der WB4101-Rezeptoren	109
4.3.8.2.	Bestimmung der Kapazität und Affinität der Clonidin-Rezeptoren	110
5.	Zusammenfassung der Ergebnisse	112

Anhang: Literaturverzeichnis
Abkürzungsverzeichnis
Lebenslauf

1. Einleitung und Problemstellung

Die Krankheit Anorexia nervosa, auch Pubertätsmagersucht genannt, wurde bereits 1689 von Morton mit den typischen Symptomen wie folgt beschrieben:

" Die Tochter des Mr. Duke in der St.Maria-Gasse wurde im Monat Juli des Jahres 1684 in ihrem 18. Lebensjahr nach vielen Sorgen und seelischen Leiden von einer vollkommenen Unterdrückung der Menses befallen, ohne daß sich dabei Symptome einer Chlorose zeigten. Appetit und Verdauung ließen von dieser Zeit an nach. Das Fleisch begann schlaff und und das Aussehen bleich zu werden, begleitet von anderen Symptomen, die bei einer allgemeinen Auszehrung üblich sind. Auch von jener überaus starken und höchst denkwürdigen Kälte, welche im folgenden Winter eintrat, schien dieses Hinschwinden noch ziemlich beschleunigt zu werden, zumal sie sich bei nächtlichem Studieren und eifriger Lektüre von Büchern, der sie sich hingab, den Unbilden der Luft, die damals äußerst kalt war, Tag und Nacht auszusetzen pflegte, wobei eine sichtbare Schädigung des Nervensystems nicht ausblieb. Im folgenden Frühjahr nahm sie auf Grund einer Verschreibung irgendeines Quacksalbers ein Emeticum und darauf eine eisenhaltige Medizin, aber ohne jeden Erfolg. Von da an wies sie Medikamente aller Art zurück und vernachlässigte für volle zwei Jahre die Pflege ihrer selbst völlig. Bis sie endlich selbst in hochgradigen Marasmus (Entkräftung) geriet und, von zahlreichen Ohnmachten befallen, von mir Hilfe erbat. Ich erinnere mich nicht, jemals einen so marantischen Patienten, einem von Haut überzogenen Skelett gleichend, noch lebend in meiner Praxis beobachtet zu haben. Dennoch war kein Fieber festzustellen, sondern im Gegenteil eine Kälte des ganzen Körpers. Weder Husten noch Atemnot noch irgendeine andere krankhafte Affektion der Lungen oder anderer innerer Organe waren vorhanden. Kein Durchfall oder irgendein anderes Kennzeichen innerer Verflüssigung oder unnatürlicher Auszehrung oder unnatürlicher Entleerung waren vorhanden. Der Appetit war in einzigartiger Weise herabgesetzt, die Verdauung beschwerlich, die Ohnmachtszustände wiederholten sich häufig. Diese Symptome versuchte ich, durch äußere Anwendung von Kräuterpackungen in der Magengegend und durch Magenpflaster sowie durch innere Medikation von Bitterstoffen, Eisen und Zuckerwasser,

aus gleichen Teilen Cephalica und Hysterica zusammengesetzt, Salmiak-Spiritus mit Bibergeil genügend getränkt und andere Stoffe dieser Art zu erleichtern. Auf Grund dieser Mittel schien sie sich viel besser zu fühlen, aber alsbald vom Überdruß an den Medikamenten ergriffen, verlangte sie, die ganze Sache wiederum der Natur zu überlassen, worauf sie von Tag zu Tag weiter dahinschwindend nach drei Monaten, von einer Ohnmacht befallen, ihrem Schicksal erlag." (zitiert nach Thomä)

Zum Beginn der Anorexia nervosa werden hier Sorgen und Leiden beschrieben und als wesentliche Merkmale der Krankheit Amenorrhoe, Appetitstörung, Obstipation, extreme Abmagerung, Untertemperatur und rastloses Arbeiten, sowie die Ablehnung ärztlicher Hilfe angeführt. Die Bezeichnung Anorexia nervosa wird erstmals im 19. Jahrhundert von dem englischen Arzt Gull für Magerkeit durch chronisches Hungern, begleitet von Obstipation und Amenorrhoe, verwendet. Mit An-Orexia ist das fehlende Verlangen, bzw. der fehlende Appetit nach Nahrung gemeint. Gull führt den Appetitverlust auf einen krankhaften Geisteszustand zurück. Zur gleichen Zeit hält auch der französische Arzt Lasèque diese Krankheit für eine "intellektuelle Abnormität" und bezeichnet sie als Anorexia hysterica. (Thomä 1961)

In der französischen Literatur findet sich heute der Begriff Anorexie mentale, in der anglo-amerikanischen und in der deutschen der alte Begriff Anorexia nervosa. Im deutschen Schrifttum sind zusätzlich die Bezeichnungen Pubertätsmagersucht, endogene Magersucht und psychogene Magersucht verwendet worden.

Heute nimmt die Krankheit Anorexia nervosa vor allem in Industrieländern zu. Circa zehn von hundert Anorexia nervosa Fällen enden tödlich (Meerrmann 1981). Die Diagnose wird meist nach den Kriterien von Feighner et al. 1972 erstellt. Hier sind neben Verhaltensveränderungen physische Veränderungen wie Gewichtsverlust von 25%, Amenorrhoe, Lanugobehaarung und Bradykardie angeführt. Ferner ist das Krankheitsbild in der internationalen Klassifikation der Krankheiten der WHO wie folgt beschrieben:

* Anorexia nervosa:

Eine Störung, deren Hauptmerkmale eine persistente aktive Essensverweigerung und ein markanter Gewichtsverlust sind. Das Aktivitätsniveau ist charakteristischer Weise hoch im Verhältnis zum Grad des Gewichtsverlustes. Die Störung beginnt typischer Weise beim pubertierenden Mädchen, gelegentlich auch vor der Pubertät und tritt bei Personen männlichen Geschlechtes selten auf. Gewöhnlich besteht Amenorrhoe, verschiedene andere physiologische Veränderungen, wie verlangsamter Puls und Atemfrequenz, erniedrigte Körpertemperatur und lageabhängige Ödeme, sind möglich. Ungewöhnliche Eßgewohnheiten und Einstellung zur Nahrung sind typisch, und manchmal folgt das Hungern Perioden übermäßiger Nahrungsaufnahme oder wechselt mit solchen. Die begleitenden psychiatrischen Symptome sind unterschiedlich." (aus Meermann 1981)

Anorexia nervosa tritt überwiegend bei Patienten weiblichen Geschlechts auf und ist stets von einer Amenorrhoe begleitet. In geringer Anzahl wurde die Krankheit jedoch auch beim männlichen Geschlecht beobachtet, bei dem sie überwiegend vor dem Beginn der Pubertät einsetzt und eine gravierende Verzögerung der pubertären Entwicklung und des Größenwachstums zur Folge hat. (Bruch 1979)

Bei Anorexia nervosa sind Störungen des Eßverhaltens, Kontaktstörungen und ablehnende Einstellung zur Sexualität zu beobachten. Neben den Verhaltensstörungen treten eine Reihe von somatischen Störungen bzw. Veränderungen auf. Hierbei ist auch das stoffliche Informationssystem des Körpers, das endokrine System betroffen. Bei weiblichen und bei männlichen Anorexie-Patienten ist die Fortpflanzungsfähigkeit (Ovulation, Spermatogenese) beeinträchtigt. Die Aktivität der Gonaden wird über den endokrinen Regelkreis der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse reguliert. Dieser Regelkreis kann an allen Schaltstufen endokrin angesteuert werden, wodurch eine Verknüpfung mit dem Gesamtsystem des Körpers zustande kommt. Die funktionellen Veränderungen, die die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse durch die Unterernährung erfährt,

wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht.

Bei Patienten mit Anorexia nervosa ist eine Verminderung der Konzentration des luteinisierenden Hormons (LH) im Serum und eine Erhöhung des Kortisolspiegels im Serum zu beobachten (Pirke 1981). Bei der Ratte (*Rattus rattus*) treten bei Unterernährung die gleichen Veränderungen des Gonadotropins LH und des Glukokortikoids, in dieser Spezies Kortikosteron, auf, sodaß dieses Tier für entsprechende Untersuchungen geeignet schien. Da das endokrine Steuersystem bei der weiblichen Ratte, mit ihrem fünftägigem Ovulationszyklus wesentlich komplizierter gestaltet ist, als das der männlichen Ratte, wurde letzteres Geschlecht für die Durchführung der Versuche herangezogen, um dem Prinzip der Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse durch Mangelernährung auf möglichst einfache Weise auf die Spur zu kommen.

Im einzelnen sollten die Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse bei der adulten, männlichen Wistar-ratte durch Mangelernährung auf der Hypophysen- und Gonadenebene untersucht werden, sowie die Veränderungen der Sekretion des LH-releasing Hormones (LHRH) auf hypothalamischer Ebene.

Nur ein Teil der hierbei auftretenden Fragen konnte durch in vitro Versuche beantwortet werden. Bei einem Großteil der Experimente konnte jedoch leider auf in vivo Tierversuche nicht verzichtet werden, da das endokrine System den ganzen Körper als zusammenhängendes System steuert und infolgedessen für die Beantwortung vieler Fragen eine isolierte Betrachtungsweise nicht möglich war.

Der Hypothalamus stellt die oberste Steuerungszentrale des Regelkreises der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse dar. In der normalen, gesunden, männlichen, adulten, ernährten Ratte wird das luteinisierende Hormon (LH) aus der Adenohypophyse durch Stimulation mit dem LH-releasing Hormon (LHRH) ausgeschüttet. Dieses LHRH ist ein Peptidhormon. Es besteht aus den zehn Aminosäuren Prolin-Lysin-Tryptophan-Serin-Tyrosin-Glycin-Leucin-Arginin-Prolin-Glycin.

Das Dekapeptid LHRH wurde von Matsuo et al. 1971 charakterisiert und synthetisiert. Die LHRH-Neuronen haben relativ lange Axone. Ihr Verlauf wurde mit immunozytochemischen Methoden ermittelt. (Knigge et al. 1978, Kawano 1981).

Die Perikarien, in denen das LHRH synthetisiert wird, liegen in der präoptischen Area, unterhalb der Commissura anteriora. Von dort aus gehen Projektionen in den retrochiasmatischen Hypothalamus und letztendlich wurde außerordentlich viel immunoreaktives LHRH-Material in der medianen Eminenz nachgewiesen, in der die Terminalfelder der LHRH-Neuronen liegen. Barnea et al 1980 haben die subzelluläre Verteilung von LHRH in hypothalamischen Neuronen untersucht. Durch kontinuierliche Sucrose-Dichtegradienten-Zentrifugation konnten sie drei verschiedene LHRH-haltige Vesikel unterscheiden: freie Granula und zwei verschiedene synaptosomenartige Partikel, sogenannte fragile und rigide "Synaptosomen". Die rigiden Partikel scheinen das LHRH bis zu einem gewissen Grade zu speichern, während in den fragilen Partikeln stets nur geringe Mengen von LHRH gefunden werden. Es wird angenommen, daß die fragilen Partikel diejenigen neuronalen Terminalen darstellen, die an die Kapillaren der hypophysären Portalgefäße stoßen, über die das LHRH zum Hypophysenvorderlappen transportiert wird. Das LHRH wird also nicht gespeichert, sondern sofort ausgeschüttet. Auch Denizau et al. 1981 konnten bei Primärkulturen von hypothalamischen Ratzenzellen keine Speicherfähigkeit finden.

Das LHRH wird über die Portalgefäße an die LH-haltigen Zellen der Adenohypophyse herangebracht. Diese Zellen haben

an ihrer Oberfläche Rezeptoren für LHRH. Bei der Stimulation der LH-Ausschüttung scheint zyκλο-Guanosinmonophosphat eine Rolle zu spielen (Nakano et al. 1978), während zyκλο-Adenosinmonophosphat (cAMP) nach Conn et al. 1979 hier nicht in Form eines second messenger in Aktion tritt.

LHRH ist nicht nur das releasing Hormon für LH, sondern auch für das Follikel-stimulierende Hormon (FSH), das im männlichen Säugetierorganismus die Spermatogenese stimuliert.

LH und FSH werden aus der Adenohypophyse ausgeschüttet und über die Blutbahn zu den Gonaden gebracht. LH bindet sich im männlichen Organismus an LH-spezifische Rezeptoren der Leydig'schen Zwischenzellen, die für die Synthese des männlichen Gonadenhormons Testosteron zuständig sind. Testosteron seinerseits hat, neben FSH, auch einen Einfluß auf die Spermatogenese. Durch die Bindung von LH an den Rezeptor wird das Enzym Adenylatzyklase aktiviert, der second messenger cAMP entsteht, die Steroidogenese beginnt und letztendlich wird Testosteron von den Leydig'schen Zwischenzellen ausgeschüttet. Bei einer hohen LH-Konzentration kommt es zu einer "down regulation" der testikulären LH-Rezeptoren (Hsueh et al. 1976, Auclair et al. 1977, Huhtaniemi et al. 1981). Auch andere Hormone können die Anzahl der testikulären LH-Rezeptoren beeinflussen. Für Prolaktin wird ein positiver Einfluß auf die LH-Rezeptoren beschrieben (Chan et al. 1981, Morris et al. 1980). Für LHRH wurde eine "down regulation" der LH-Rezeptoren beobachtet, wobei zuerst eine indirekte Wirkung über eine Erhöhung des hypophysären LH's angenommen wurde (Auclair et al. 1977, Catt et al. 1979), später jedoch auch eine direkte negative Wirkung des LHRH's bei hypophysektomierten Tieren nachgewiesen werden konnte. (Bambino et al. 1980, Perrin et al. 1980). Ferner stellten Bambino und Hsueh 1981 fest, daß Glukokortikoide wie z.B. Kortikosteron sowohl die testikulären LH-Rezeptoren, als auch die Steroidogenese reduzieren können, wodurch ein steuernder Einfluß des Nebennierenrindenhormons Kortikosteron auf die Gonadenfunktion möglich ist.

Ferner berichten Darney und Ewing 1981 von einer auto-regulatorischen Wirkung des Testosterons: Durch einen negativen "short loop" feedback in den Testes wird durch das Endprodukt Testosteron eine weitere Biosynthese und Ausschüttung von Testosteron verhindert. Testosteron wirkt aber nicht nur steuernd auf die Gonaden zurück, sondern auch auf die übergeordneten Schaltstellen des Regelkreises, auf die Hypophyse und den Hypothalamus.

Salano et al. 1980 verglichen nach Absenkung des Testosteronspiegels durch Kastration die Immunoreaktivität von LH im Serum und in der Hypophyse mit seiner Bioaktivität. Letztere wurde in vitro an interstitiellen Zellen getestet. Die Bioaktivität von LH im Serum war um 50 % und in der Hypophyse um 25 % vermindert. Sie konnte durch Applikation von Testosteronpropionat wieder hergestellt werden. Es wird vermutet, daß Testosteron oder seine Abbauprodukte Dihydrotestosteron oder Östrogen den Einbau von Kohlehydraten in neu synthetisiertes LH beeinflussen. Den glykosilierten LH-Molekülen wird die biologische Aktivität zugesprochen. Diese Überlegung findet eine Bestätigung in den Ergebnissen der Untersuchungen von Liu et al. 1979: Hier wurden Hypophysen mit radioaktiven (^{14}C)-Alanin und tritiiertem Glukosamin mit LHRH inkubiert, das ausgeschüttete radioaktiv markierte LH wurde säulenchromatographisch mit Sephadex aufgetrennt. Es wurde eine kohlehydratarme LH-Form mit hohem Molekulargewicht (big LH) gefunden, die früh im Biosyntheseweg auftritt (Pulsmarkierung) und eine geringe biologische Aktivität hat und als zweites wurde eine kohlehydratreichere LH-Form mit einem niedrigeren Molekulargewicht gefunden, die das native LH mit einer hohen biologischen Aktivität darstellt.

Das luteinisierende Hormon wird, wenn wegen niedrigem Testosteronspiegel keine negative Rückkoppelungswirkung zum Tragen kommt, durch einen LHRH-Stimulus aus dem Hypothalamus zur Ausschüttung gebracht. Für die Wirksamkeit des LHRH's scheint eine pulsierende Ausschüttung dieses Hormons mit einer Frequenz von 20-30 Minuten notwendig zu sein und die Hypophysäre Antwort vom Androgenspiegel modifiziert zu werden (Nansel und Trent 1979).

Die LHRH-Neuronen werden durch verschiedene Neurotransmitter beeinflusst. Das Katecholamin Dopamin entsteht aus der Aminosäure Tyrosin durch die Wirkung des Enzyms Tyrosinhydroxylase (siehe Übersichtsschema Seite 35). Im Gehirn der Ratte werden drei Systeme dopaminerger Neuronenbahnen unterschieden: als extrahypothalamische Systeme das nigrostriatale und das mesolimbische System, die im Bezug zu den LHRH-Neuronen keine Rolle spielen und das tubero-infundibuläre System, das im Hypothalamus nachgewiesen wurde. Die Perikarien befinden sich vor allem im Nucleus anterior periventricularis hypothalami und im Nucleus arcuatus. Die Axone enden dicht gepackt in der Palisadenzone der medianen Eminenz, dicht an den Kapillaren des hypophysären Portalvenensystems (Mess 1979). Durch immuno-ultrastrukturelle Untersuchungen wurde gezeigt, daß dopaminerge Terminalen einerseits einen axo-axonalen Kontakt zu LHRH-Neuronen haben. Andererseits zeigt auch ein enges Angrenzen dieser Terminalen an die Portalgefäße in der externen Schicht der medianen Eminenz, daß eine Ausschüttung von Dopamin und somit eine dopaminerge Beeinflussung auf hypophysärer Ebene möglich wäre (Ajika 1980).

Von Fuxe et al. 1978 wurden dopaminerge Neuronen mit Hilfe von Antikörpern gegen das Enzym Tyrosinhydroxylase untersucht und Anhaltspunkte für eine Dopamin-Ausschüttung aus den Dendriten am Anfang des Axons gefunden, was die morphologische Basis für eine inhibitorische Rückkoppelung an ein und dem selben Neuron darstellt. Der größte Dopamingehalt befindet sich in der medianen Eminenz (Palkovits et al. 1974).

Die Aussagen über die Wirkung des Dopamins im Hypothalamus sind in der Literatur recht widersprüchlich. Einerseits wurde in vitro eine stimulierende Wirkung von Dopamin auf die Ausschüttung von LHRH beschrieben (Rotszejn et al. 1977, Kordon et al. 1979, Negro-Vilar et al. 1979), andererseits wurden für Dopamin inhibierende Effekte festgestellt (Fuxe et al. 1977, Honma und Wuttke 1980, Chioocchio et al. 1980, Ferrari et al. 1981, Rance et al. 1981, Gallo 1981).

Sarkar und Fink 1981 unterschieden zwei verschiedene Dopamin-Rezeptoren im Hypothalamus: Stimulation der Pimozid-blockierbaren Dopamin-Rezeptoren führt zu einer Blockierung der LHRH-Ausschüttung, wohingegen eine Stimulation der Haloperidol-blockierbaren Dopamin-Rezeptoren die Ausschüttung von LHRH positiv beeinflusst. Diese Befunde verschiedener Rezeptoren könnten eine Erklärung für die unterschiedlich beschriebene Dopamin-Wirkung sein.

Das Katecholamin **N o r a d r e n a l i n** entsteht aus Dopamin durch die Wirkung der Dopamin- β -Hydroxylase. Bei den noradrenergen Neuronen, deren Perikarien im Zwischenhirn liegen, werden zwei Systeme unterschieden: Das dorsale Bündel, dessen Terminalen im Kortex enden und das ventrale Bündel, dessen Terminalen im ventralen Telenzephalon, in der präoptischen Area und im Hypothalamus enden (Mess 1979). Die Noradrenalin-Konzentration ist besonders hoch im Nucleus periventricularis, in der Area retrochiasmatica, im Nucleus dorsomedialis und in der medianen Eminenz. Auch für Noradrenalin wurde in der externen Schicht der medianen Eminenz ein naher Kontakt zu den Portalgefäßen festgestellt (Ajika 1980). Palkovits et al. 1974 ermittelten in der medianen Eminenz einen Noradrenalin-Gehalt, der ungefähr halb so groß wie die Konzentration von Dopamin (65 ng/mg Protein) in diesem Bereich ist, während Chiocchio et al. 1976 sechseinhalb mal soviel Dopamin wie Noradrenalin fanden. Für Noradrenalin wird einheitlich nur eine stimulierende Wirkung auf die LHRH-Neuronen beschrieben (Kordon et al. 1979, Negro-Vilar et al. 1979, Honma und Wuttke 1980, Rance et al. 1981, Sarkar und Fink 1981).

Der Mechanismus der **n e g a t i v e n R ü c k k o p - p e l u n g** der gonadalen Steroide wirkt nicht nur auf der hypophysären Ebene, wie schon erwähnt, sondern auch auf der hypothalamischen Ebene. Bereits Nansel et al. 1979 diskutieren eine negative Rückwirkung des Testosterons auf den Hypothalamus. Das gonadale C19-Steroid Testosteron kann

durch das Enzym 5- α -Reduktase zum 5- α -Dihydrotestosteron reduziert werden oder durch Aromatisierung in ein Östrogen (C18-Steroid) umgewandelt und als solches biologisch wirksam werden. Für die negative Rückkoppelung der Gonadenhormone zum Hypothalamus wurden folgende Wirkungsweisen nachgewiesen: Peck et al. 1979 fanden einen regulierenden Einfluß der Steroidhormone auf die LHRH-Ausschüttung bei der Ratte: Nach Kastration ist wegen vermehrter Ausschüttung der hypothalamische LHRH-Gehalt niedrig und kann durch Östrogen-Substitution wieder aufgehoben werden. Advis et al. 1980 schließen aus ihren Ergebnissen, daß der Metabolismus von LHRH und von Noradrenalin in der präoptischen Area und in der medianen Eminenz durch Östradiolgesteuert wird. Simpkins et al. 1980 substituierten kastrierte männliche Ratten mit Testosteronkapseln und stellten bei einem gegen normal erhöhten Testosteronspiegel im Serum erniedrigte LH- und FSH-Werte fest und fanden im basalen Hypothalamus wieder eine Verminderung des Noradrenalin-Umsatzes, der sich bei Kastration ansich erhöht: Die hypothalamischen Noradrenalin-Neuronen können auf Schwankungen des Testosteronspiegels reagieren.

Ferner beschreiben Wilkinson et al. 1979 a,b für die gonadalen Steroide einen Effekt auf die alpha- und beta-adrenergen Rezeptoren des basalen Hypothalamus. Über diese Rezeptoren werden die Neurotransmitter an den LHRH-Neuronen aktiv. Ebenso wird von Agnati et al. 1981 eine regulierende Wirkung von Östrogen auf die Affinität und die Anzahl der alpha- und betaadrenergen Rezeptoren des Hypothalamus nachgewiesen.

2. Durchgeführte Versuche und deren Ergebnisse

2.1. Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse bei der adulten, männlichen Wistar-Ratte

Im normalen, gesunden Organismus der erwachsenen männlichen Wistar-Ratte wird die Tätigkeit der Gonaden über das Gehirn durch einen negativen feedback-Mechanismus gesteuert. Bei hoher Gonadenaktivität wird sehr viel Testosteron in die Blutbahn ausgeschüttet. Das hat eine Drosselung der Ausschüttung des gonadotropen luteinisierenden Hormons (LH) aus dem Hypophysen-Vorderlappen zur Folge. Durch die geringe Konzentration von LH im Blut binden sich zu wenig LH-Moleküle an die LH-Rezeptoren der Gonaden, die Adenylatzyklase wird nicht stimuliert und kein "second messenger" in Form von zyklischer Adenosinmonophosphat (cAMP) gebildet und letztendlich wird so die Synthese von weiterem Testosteron gedrosselt.

Ist andererseits der Testosteron-Spiegel unter einen bestimmten Schwellenwert abgesunken, so wird der LH-release aus der Hypophyse nicht mehr blockiert, die Gonaden werden zur Testosteron-Produktion angeregt. Dieser negative Rückkopplungs-Mechanismus wirkt nicht nur direkt auf die Hypophyse, sondern wird indirekt auch über eine Beeinflussung des hypothalamischen Peptidhormons LHRH (LH-releasing Hormon) angesteuert.

In den ersten Versuchen wurden das gonadale Steroid-Hormon Testosteron, sowie das Peptidhormon LH und das Glykopeptid LHRH auf eventuelle Veränderungen ihrer Konzentrationen im Verlauf von fünf Tagen Mangelernährung untersucht.

2.1.1. Veränderungen des Gonadenhormons Testosteron und des Gonadotropins LH

2.1.1.1. Veränderungen des Testosteron-Spiegels im Serum im Verlauf von einer Woche Nahrungskarrenz

Als erstes wurde die Gewichtsreduktion der Ratten durch Nahrungsentzug im Vergleich mit ernährten Kontrolltieren über sieben Tage ermittelt. Die Daten über Art, Alter, Herkunft, Haltung und Ernährung der Tiere sind unter 4.1. angegeben.

Abbildung 1 gibt das Ergebnis wieder:

Abbildung 1

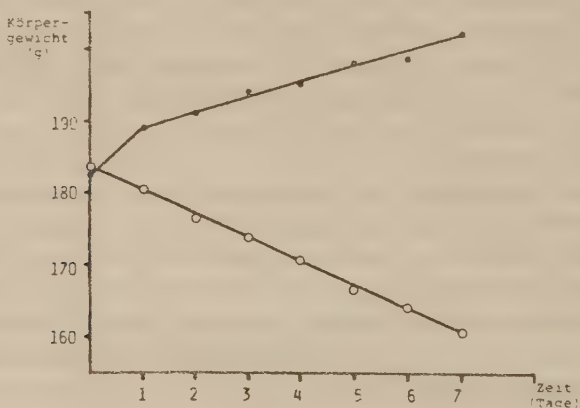


Abb. 1: Zu- und Abnahme des Körpergewichts der Versuchstiere im Verlauf von einer Woche mit (●) und ohne (○) Nahrung

Die Tiere hatten ein mittleres Ausgangsgewicht von $207 \pm 7,8$ g, die ernährten Tiere ($n=10$), nahmen durchschnittlich 5,6 g pro Tag zu, während die Tiere ohne Nahrung ($n=10$) gleichmäßig 6,0 g pro Tag abnahmen.

Nach 7 Tagen Nahrungsentzug sehen die Ratten entsprechend untergewichtig aus, das Fell ist am ganzen Körper gestäubt, die Tiere bewegen sich sehr steif. Sie hätten die Prozedur wahrscheinlich noch um zwei weitere Tage überlebt. Alle anschließenden Aushungerungsversuche wurden nur maximal bis zu fünf Tagen ausgeführt. In keinem einzigen Versuch ist ein Tier durch Unterernährung zu Tode gekommen.

Die Veränderungen des Testosteronspiegels im Plasma im Verlauf von einer Woche wurden im bereits genannten 7-Tage-Versuch und in einem weiteren Versuch, in dem die Tiere 1,2, 3,4 und 5 Tage ausgehungert wurden, ermittelt. Aus dem 7-Tage-Versuch stammt der Kontrollwert ($n=10$) und der Wert nach siebentägigem Nahrungsentzug ($n=10$). Die Gruppen à $n=6$ des zweiten Versuches wurden über einen Zeitverlauf von ein bis fünf Tagen ohne Futter gehalten. Die verschiedenen Gruppen der Kontrolltiere und mangelernährten Tiere (siehe 4.1.) wurden nach 0, 1, 2, 3, 4, 5 und 7 Tagen dekapitiert und das Blut entnommen, wie unter 4.2.3. angegeben.

Aus dem Serum jeder Ratte wurde die Testosteron-Konzentration radioimmunologisch mit der unter 4.3.1. beschriebenen Methode nach Pirke 1973 bestimmt.

Die Abbildung 2 auf der nächsten Seite zeigt die Ergebnisse.

Abbildung 2

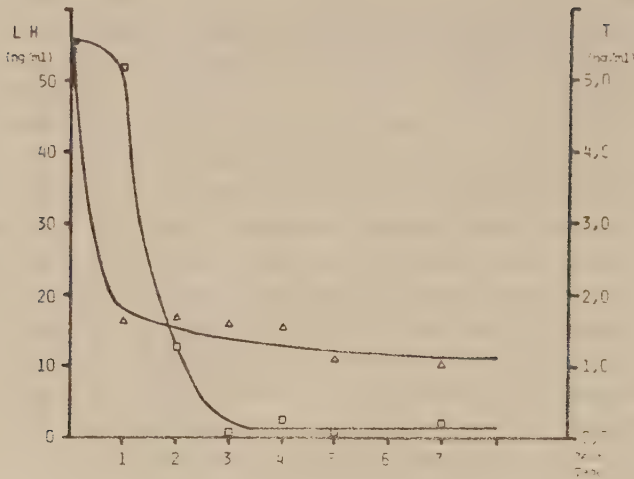


Abb.2: Veränderungen der Serumspiegel von Testosteron (T △)
und Luteinisierendem Hormon (LH □) im Verlauf von
7 Tagen Nahrungsentzug

In den Kontrolltieren wurde ein Testosteronspiegel von 5,44 ng/ml Serum gefunden. Schon nach einem Tag Nahrungsentzug sinkt der Testosteronspiegel drastisch ab und bleibt anschließend bis zum siebten Tag ungefähr auf dem gleichen Niveau, wobei 1,0 ng/ml Serum nicht unterschritten werden. Dieser Mindestspiegel des Testosterons bleibt also bis zu 35 % Gewichtsreduktion (7 Tage) erhalten.

2.1.1.2. Veränderungen von LH - Konzentrationen

Das luteinisierende Hormon LH wird im Hypophysenvorderlappen gebildet und als Botenstoff in den Kreislauf ausgeschüttet. Die Ausschüttung von LH wird in der männlichen Ratte durch einen negativen Testosteron-feedback-Mechanismus, sowie durch hypothalamische Peptidhormone und Transmitterstoffe kontrolliert. Unter 2.1.1.1. wurde ermittelt, daß die Testosteronkonzentration im Serum schon nach einem Tag Nahrungsentzug sehr stark reduziert ist. In den nachfolgenden beiden Versuchen wurde die Veränderung des LH-Spiegels im Serum und die Auswirkung der Gewichtsreduktion auf die hypophysäre LH-Konzentration bestimmt.

2.1.1.2.1. Veränderungen der LH-Konzentrationen im Serum im Verlauf von einer Woche Nahrungsentzug

Die Veränderungen des LH-Spiegels im Serum wurden genau aus den gleichen Versuchsgruppen ermittelt, wie die des Testosteron-Spiegels. Das luteinisierende Hormon wurde radioimmunologisch nach der unter 4.3.2. beschriebenen Methode bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Kontrolltiere haben einen LH-Spiegel von 55 ± 41 ng/ml Serum. Nach einem Tag Nahrungsentzug ist noch keine besondere Verringerung der LH-Konzentration zu verzeichnen, jedoch schon nach zwei Tagen haben die Tiere nur noch circa ein Fünftel der Normalmenge und ab dem dritten Tag der Nahrungskarrenz ist praktisch kein LH mehr im Serum nachweisbar ($2,1 \pm 5,5$ ng/ml).

2.1.1.2.2. Bestimmung der LH-Konzentration in der Hypophyse

Die LH-Konzentration der Hypophyse wurde aus der Kontrollgruppe und der Hungergruppe des 7-Tage-Versuchs bestimmt. Die Hypophysen wurden wie unter 4.2.3. beschrieben entnommen. Jeweils eine Hypophyse wurde in 1,0 ml isotonischem Phosphat-

puffer pH 7,2 homogenisiert und bei 800 g in der Kältezentrifuge abzentrifugiert. Aus dem Überstand wurde die LH-Konzentration aus einer Verdünnung von 1:200 nach der unter 4.3.2. beschriebenen Methode bestimmt.

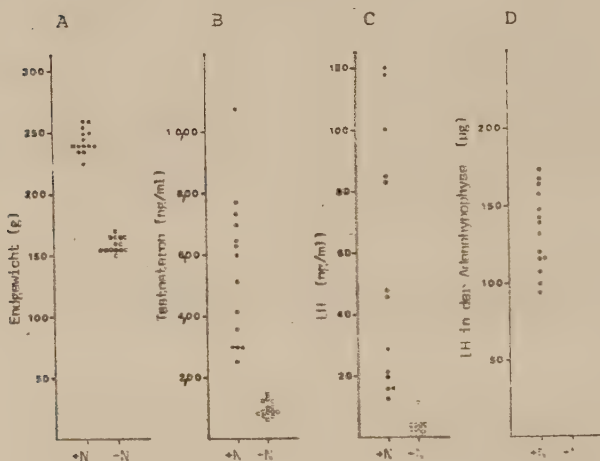


Abb.3: Endgewicht (A), Testosteronkonzentration im Serum (B), LH-Konzentration im Serum (C) und LH-Konzentration in der Adenohypophyse (D) von ernährten Kontrolltieren (mit Nahrung, +N) und mangelernährten Tieren (ohne Nahrung, -N)

Abbildung 3 zeigt einen Vergleich der LH-Konzentrationen im Serum (C) und in der Hypophyse (D) bei ernährten Kontrolltieren und mangelernährten Tieren nach 7 Tagen Nahrungskarenz, entsprechend einem Verlust an Körpergewicht von 34% (A). Die LH-Serumkonzentration der Hungertiere ist signifikant verschieden von der Serumkonzentration der Kontrolltiere ($p < 0,01$), während der Unterschied der LH-Konzentrationen der Hypophysen nicht signifikant ist. Gleichzeitig gibt Abbildung 3 die entsprechenden Testosteronkonzentrationen im Serum (B) wieder. Auch hier ist der Unterschied signifikant ($p < 0,01$).

2.1.2. Funktionelle Überprüfung der beteiligten endokrinen Drüsen

Ein Funktionieren der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse setzt eine intakte Tätigkeit der beiden endokrinen Drüsen, Hypophyse und Testes, voraus. Die Funktionsfähigkeit der Hypophyse als LH-produzent und der Testes als Steroidlieferant wurde in den folgenden Versuchen untersucht.

2.1.2.1. Gonadenfunktion

Durch Stimulation der testikulären LH-Rezeptoren wird intrazellulär die Bildung des sekundären Messengers cAMP angeregt, der wiederum die Produktion des Steroidhormons Testosteron initiiert. Die Sekretion des gebildeten Testosterons aus den Leydig'schen Zwischenzellen ist von der kapillären Durchblutung abhängig. (Eik-Nes 1964). Beides, die Stimulierbarkeit über die LH-Rezeptoren und die kapilläre Durchblutung der Testes wurden untersucht.

2.1.2.1.1. Stimulation der Gonaden durch hCG

Jeweils 10 Kontrolltiere und 10 mangelernährte Tiere (~34% Gewicht) erhielten an den drei Tagen vor der Dekapitation jeweils eine supramaximale Dosis von 10 Internationalen Einheiten des "human chorionic gonadotropine" (hCG) s.c. gespritzt. Das menschliche Chorion-Gonadotropin bindet sich an die LH-Rezeptoren der Leydig'schen Zellen und regt so in gleicher Art und Weise wie das luteinisierende Hormon die Steroidproduktion an. Mit Hilfe von hCG kann also getestet werden, ob die Gonaden durch das Gonadotropin LH, wenn dieses in den abgemagerten Ratten vorhanden wäre, stimulierbar wären. Das Ausmaß der Stimulation wird am Anstieg der Testosteronkonzentration gemessen.

Abbildung 4

Testosteronkonzentration
im Serum von ernährten
(●) und mangelernährten
(○) Ratten, jeweils
unstimuliert und nach
dreitätiger Stimulation
mit 10 I.E. hCG

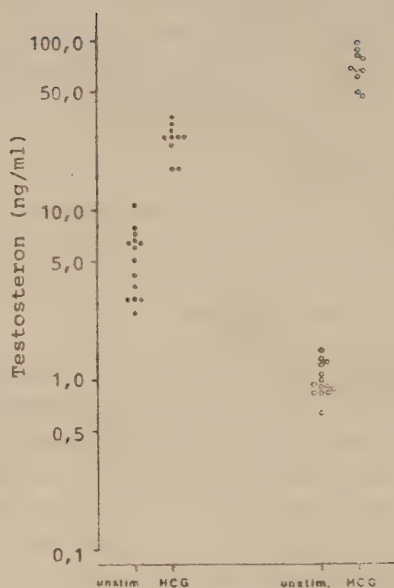


Abbildung 4 gibt die Testosteronwerte des Plasmas nach dreitägiger hCG-Stimulation wieder. Bei nicht hCG-stimulierten mangelernährten Ratten ist der Plasma-Testosteronspiegel signifikant ($p < 0,01$) erniedrigt. Der supramaximale hCG-Reiz löste in Kontroll- und Hungertieren eine maximale Antwort aus. Überraschenderweise zeigen die ausgehungerten Ratten auf den hCG-Stimulus hin eine wesentlich höhere Testosteronkonzentration als die normalernährten.

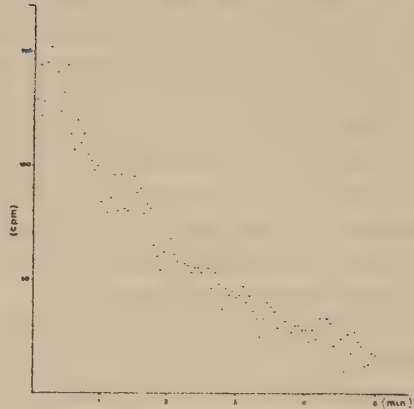
2.1.2.1.2. Messung der kapillaren Durchblutung der Testes

Wie bereits erwähnt ist die Sekretion von Testosteron aus den Gonaden von der Geschwindigkeit der kapillaren Durchblutung abhängig. Die testikuläre Durchblutung wurde am Verschwinden des in die Testes injizierten Radioisotops $^{133}\text{Xenon}$ gemessen. Die Messung wurde in gleicher Weise wie von Pirke et.al. 1979 beschrieben, in der nuklearmedizinischen Abteilung der Klinik Rechts der Isar, München durchgeführt. Herrn Doktor Bofilias sei an dieser Stelle für die Ermöglichung dieser Untersuchung und die computermäßige Erfassung der Daten recht herzlich gedankt.

Die Tiere einer Kontrollgruppe (n=6) und einer fünf Tage mangelernährten Gruppe (n=6) wurden jeweils mit 0,9 prozentiger Kochsalzlösung s.c. injiziert während jeweils eine Parallelgruppe à n=6 drei Tage lang einmal täglich (9⁰⁰h) 10 I.E. hCG s.c. erhielt. Zur Messung der Durchblutung wurden jeweils 6 Ratten gleichzeitig mit Ketanest anesthesiert und in je ein Testis jedes Tieres 50 µl von in 0,9% NaCl gelösten 50 µCi $^{133}\text{Xenon}$ gespritzt. Die Versuche wurden am Tag der letzten hCG-Injektion zwischen 17⁰⁰ und 21⁰⁰ h durchgeführt. Die Tiere waren während der Szintillationsmessung mit Klebeband direkt auf dem Kolimator fixiert, sodaß eine unverwackelte Aufnahme gesichert war. Die Szintillationskamera (UPh-g-3hp, Nuclear Chikago, Des Plaines IL) war an einen PDP-11/40-Computer (Digital Equipment Corp. Maynard MA) gekoppelt, mit dessen Hilfe die Verringerung der Radioaktivität durch die kapillare Durchblutung in den Testes in dpm pro 3-Sekunden Intervall über eine Gesamtmeßzeit von fünf Minuten errechnet wurde. Abbildung 5 ist ein Beispiel einer graphischen Wiedergabe einer derartigen Messung über fünf Minuten.

Abbildung 5

Graphische Darstellung einer Messung der kapillaren Durchblutung mit ^{133}Xe über einen Zeitraum von 5 Minuten mit Einzelmessungen in 3-Sekunden-Intervallen.



Die Halbwertszeit der ersten, schnelleren Geschwindigkeit des Abtransportes von ^{133}Xe wurde mit linearer Kurvenanpassung ermittelt und die Geschwindigkeit der kapillaren Durchblutung nach der Formel von Kety et al. 1951 errechnet:

$$F = \frac{\ln 2 \cdot \lambda}{t_{/2} \cdot \xi} \quad (\text{ml/g Gewebe/min})$$

wobei: F = relative testikuläre Durchblutung

$\ln 2 = 0,6931$

λ = Verteilungskoeffizient von Xenon zwischen Testesgewebe und Blut, = 0,82 nach Fritjofsson et al. 1969

$t_{/2}$ = Halbwertszeit in Minuten, aus den gemessenen Werten durch lineare Kurvenanpassung errechnet

ξ = spez. Gewicht der Testes = 1,05 g/ml

Parallel zu den vier Gruppen von Ratten, bei denen die testikuläre Durchblutung bestimmt wurde, wurde jeweils eine Gruppe zur Messung des Serum-Testosteronspiegels zwischen 9⁰⁰ und 12⁰⁰ h nach der letzten hCG-Injektion dekapitiert und das Blut aufgefangen. Die nachfolgende Tabelle gibt die Testosteronkonzentration im Serum mit und ohne Nahrung und mit und ohne hCG-Stimulation, sowie die entsprechenden Veränderungen der kapillaren Durchblutung der Testes wieder. Der statistische Vergleich erfolgte durch den Wilcoxon-Test.

Tabelle 1	mit Nahrung	ohne Nahrung	mit Nahrung mit hCG	ohne Nahrung mit hCG
Endgewicht (g) ($\pm$ SEM)	243,9 ($\pm$ 2,70)	160,7 ($\pm$ 1,60)	228,0 ($\pm$ 3,50)	148,5 ($\pm$ 1,30)
Anzahl der Tiere	n=14	n=14	n=10	n=10
Testosteron (ng/ml) ($\pm$ SEM)	5,43 ($\pm$ 0,63)	1,00 ($\pm$ 0,06)	26,58 ($\pm$ 1,77)	68,38 ($\pm$ 4,78)
Endgewicht (g) ($\pm$ SEM)	208,8 ($\pm$ 4,00)	173,8 ($\pm$ 2,10)	215,5 ($\pm$ 2,50)	175,0 ($\pm$ 2,90)
Anzahl der Tiere	n=8	n=8	n=10	n=10
Kapillare Durchblutung (μ l/min/g) ($\pm$ SEM)	273,0 ($\pm$ 38,0)	182,0 ($\pm$ 17,0)	271,0 ($\pm$ 27,0)	181,0 ($\pm$ 15,0)

Die Ergebnisse der Durchblutungsmessung der Testes zeigen, daß nach fünftägiger Mangelernährung die Geschwindigkeit der kapillaren Durchblutung der Rattentestes um 33,3 % reduziert ist. Die kapillare Durchblutung ist nicht mit der gonadotropen Stimulation korreliert, da die Stimulation mit hCG weder bei den ernährten, noch bei den mangelernährten Tieren eine Änderung der Durchblutungsgeschwindigkeit auslöst. Die kapillare Durchblutung der Hungertiere ist signifikant geringer als die der Kontrolltiere ($P < 0,01$). Die Testosteronausschüttung war auch hier wieder, übereinstimmend mit den Ergebnissen des Versuchs 2.1.2.1.1., durch hCG sehr gut stimulierbar. Die verminderte kapillare Durchblutung der Testes kann als zusätzliche negative Komponente bei der

Entstehung des niedrigen Plasma-Testosteronspiegels in den mangelernährten Tieren betrachtet werden, da das in den Leydig'schen Zwischenzellen synthetisierte Testosteron mit einer um ein Drittel verminderten Durchblutungsgeschwindigkeit abtransportiert wird.

2.1.2.2. Stimulation der Hypophyse mit synthetischem LHRH

In kastrierten Ratten steigt der LH-Spiegel im Serum wegen des fehlenden negativen Feedback des Testosterons auf die Hypophyse und den Hypothalamus nicht nur bei den ernährten Tieren, sondern auch bei den mangelernährten deutlich an (Siehe 2.1.1.3. Abb.8). Bei den u n k a s t r i e r t e n mangelernährten Ratten ist, ebenso wie bei den kastrierten ernährten, ein stark erniedrigter Testosteronspiegel zu beobachten. Jedoch wird in den Hungertieren trotz verminderter Testosteronkonzentration kein LH aus der Hypophyse ausgeschüttet, wie bei einer verminderten negativen Steroidrückkoppelung zu vermuten wäre.

In der Hypophyse der mageren Ratten ist genügend LH vorhanden, wie in Versuch 2.1.1.2.2. gezeigt werden konnte. In diesem Versuch wurde nun getestet, ob das in der Adenohypophyse der ausgehungerten Ratten vorhandene LH durch eine Applikation von synthetischem LHRH zur Ausschüttung gebracht werden kann.

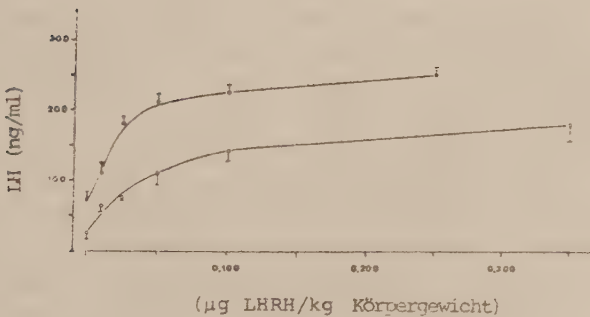
Jeweils 6 Gruppen à 6 Tiere wurden ernährt bzw. über 5 Tage mangelernährt und anschließend mit den Mengen 0,1, 0,25, 0,50, 1,00 µg LHRH/kg Körpergewicht und einer supramaximalen Dosis von 0,5 µg/Tier mit in physiologischer Kochsalzlösung verdünntem synthetischen LHRH (Relefact Fa. Hoechst) unter Äthernarkose durch eine Schwanzvene injiziert. Die Injektion gelang bei fast allen Tieren. 30 Minuten nach der Injektion wurden die Tiere dekapitiert und das Blut jeweils für die LH-Bestimmung aufgefangen.

In Tabelle 2 und Abbildung 5 sind die LH-Antworten auf die verschiedenen LHRH-S imuli wiedergegeben.

Tabelle 2

synthetisches LHRH bzw. NaCl	mit Nahrung + LHRH		ohne Nahrung + LHRH	
	LH (ng/ml)	Δ NaCl LH (ng/ml)	LH (ng/ml)	Δ NaCl LH (ng/ml)
0,9% NaCl	71,8 ($\pm 15,3$) n=10	000,0	25,3 ($\pm 9,3$) n=10	000,0
0,10 $\mu\text{g/kg}$	110,0 ($\pm 16,4$) n=6	38,2	61,8 ($\pm 9,9$) n=6	36,5
0,25 $\mu\text{g/kg}$	180,0 ($\pm 11,6$) n=6	108,2	72,4 ($\pm 3,7$) n=5	47,1
0,50 $\mu\text{g/kg}$	210,0 ($\pm 12,7$) n=5	138,2	110,0 ($\pm 13,8$) n=6	84,7
1,00 $\mu\text{g/kg}$	225,0 ($\pm 11,0$) n=6	153,2	141,5 ($\pm 16,4$) n=5	116,2
0,5 $\mu\text{g/Tier}$	250,0 ($\pm 11,3$) n=5	178,2	192,0 ($\pm 33,7$) n=5	166,7

Abbildung 6



Tab.2 und Abb.6: Ernährte und mangelernährte Ratten wurden mit verschiedenen Mengen von synthetischem LHRH behandelt und die durch den jeweiligen Stimulus erhöhte LH-Konzentration im Serum bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Hypophyse der mangelernährten Ratte sehr wohl auf einen LHRH-Reiz mit einer LH-Ausschüttung antworten kann. Der Anstieg der LH-Konzentration im Serum erfolgt Dosis-abhängig. In beiden Gruppen, ernährt und mangel-ernährt, kommt es zu einem signifikanten LH-Anstieg im Serum, wenngleich bei den mangelernährten die maximale LH-Konzentration etwas niedriger ausfällt, wie bei den ernährten Tieren. Sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Hungertieren entspricht die Dosis 28 µg LHRH/kg der halbmaximalen LH-Ausschüttung.

Nach fünf Tagen Nahrungsentzug ist also die Hypophyse in ihrer Funktion in der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse nach wie vor funktionsfähig. Das luteinisierende Hormon ist vorhanden und könnte durch das Releasing Hormon LHRH ausgeschüttet werden.

2.1.3. Veränderungen von LHRH in bestimmten hypothalamischen Nuclei

Die unter 2.1.1.2.2. aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß das luteinisierende Hormon (LH) in der Adenohypophyse sehr wohl vorhanden ist, aber wie unter 2.1.1.2.1. beschrieben ab dem dritten Tag ohne Nahrungsaufnahme praktisch überhaupt nicht mehr in den Blutkreislauf ausgeschüttet wird.

Die mangelnde Ausschüttung von LH könnte auf ein Fehlen des Releasing Hormones LHRH zurückzuführen sein. Um diese Frage zu klären, wurde der LHRH-Gehalt der drei Hirnareale, in denen das Dekapeptid gebildet, transportiert und ausgeschüttet wird, bestimmt. Das LHRH wurde radioimmunologisch nach der unter 4.3.3. beschriebenen Methode in seiner Konzentration bestimmt. Die Hirnareale präoptische Area, medialer basaler Hypothalamus und mediane Eminenz wurden wie unter 4.2.3. aufgeführt, ausgestant.

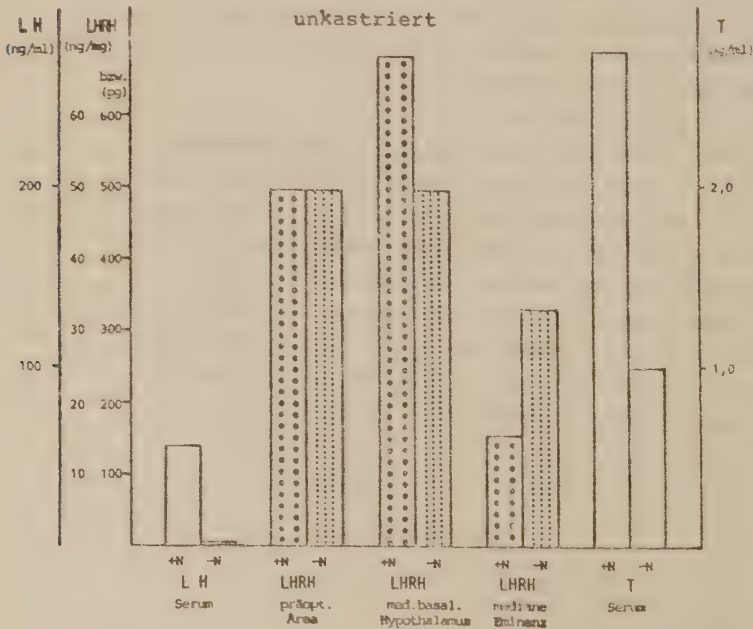
Zusätzlich sollte der Einfluß der Hormone Testosteron und LH durch den Vergleich des LHRH-Gehaltes in kastrierten Kontroll- und Hungertieren ermittelt werden. Die Kastrationen erfolgten einen Tag vor Beginn der Mangeler Ernährung wie unter 4.2.2.1. beschrieben. Kastrierte wie unkastrierte Tiere wurden über fünf Tage mangeler nährt.

Für die präoptische Area und den medialen basalen Hypothalamus wurde angenommen, daß die LHRH-haltigen Neuronen bzw. Axone in ihrer Gesamtheit herausgestant wurden und infolgedessen wird hier die pro Stück Gesamt-LHRH-Menge angegeben (pg LHRH). Die gleiche Annahme konnte jedoch für die mediane Eminenz nicht gemacht werden. Hier wurden die LHRH-Werte gegen die Proteinkonzentrationen korrigiert. Die Bestimmung der Proteinmenge jeder mit der Irisschere abgeschnittenen medianen Eminenz wurde nach Lowry et al. 1951 durchgeführt.

Die Tabelle 3 gibt die Ergebnisse wieder:

Tabelle 3	LH	LH - Releasing Hormon LHRH			Testosteron
	Serum	präoptische Area	medialer basaler Hypothalamus	mediane Eminenz	Serum
unkastriert mit Nahrung	55,0 ($\pm 11,0$) n=14	497,0 ($\pm 13,6$) n=9	682,0 ($\pm 56,0$) n=10	15,5 ($\pm 2,3$) n=10	2,75 ($\pm 0,06$) n=14
unkastriert ohne Nahrung	2,1 ($\pm 3,5$) n=14	495,0 ($\pm 43,3$) n=12	499,0 ($\pm 41,0$) n=14	33,2 ($\pm 3,1$) n=14	1,00 ($\pm 0,06$) n=14
kastriert mit Nahrung	290,0 ($\pm 24,5$) n=9	383,0 ($\pm 39,8$) n=9	480,0 ($\pm 13,4$) n=9	29,1 ($\pm 6,1$) n=9	0,66 ($\pm 0,05$) n=9
kastriert ohne Nahrung	114,0 ($\pm 27,3$) n=17	384,0 ($\pm 40,8$) n=17	770,0 ($\pm 54,6$) n=17	58,4 ($\pm 11,5$) n=17	0,76 ($\pm 0,05$) n=16
	ng/ml	pg	pg	ng/mg Protein	ng/ml

In Abbildung 7 sind die Daten der oberen Hälfte von Tabelle 3 graphisch dargestellt:



In Abbildung 8 sind die Daten der unteren Hälfte von Tabelle 3 graphisch dargestellt:

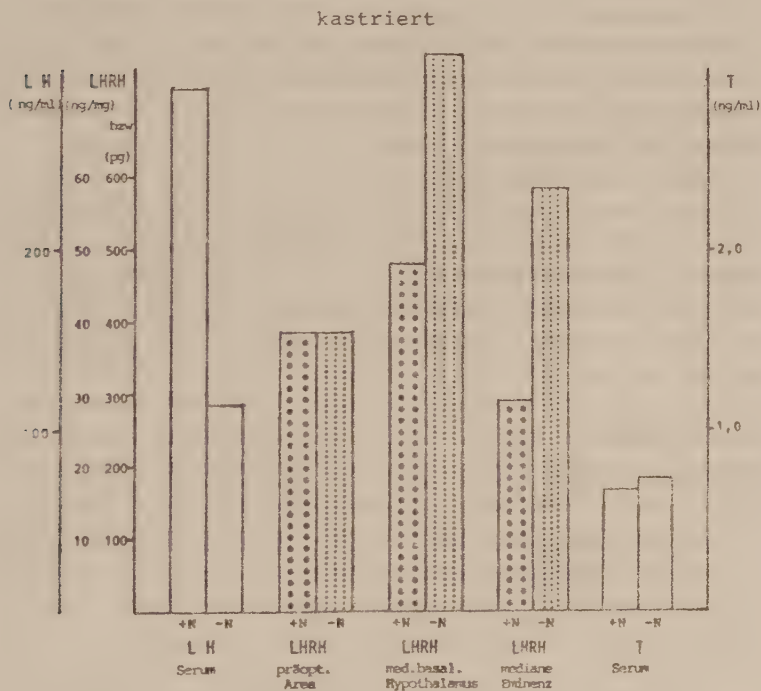


Abbildung 7 zeigt, daß bei unkastrierten Tieren eine fünf-tägige Mangeler-nährung zu einer 65,6 prozentigen Verminderung des Testosteronspiegels und gleichzeitig zu einem nahezu 100 prozentigen Verschwinden des LH aus dem Serum führt. Die verminderte LH-Ausschüttung ist jedoch nicht mit verminderten LHRH-Konzentrationen korreliert: Der LHRH-Gehalt in der prä-optischen Area bleibt durch die Mangeler-nährung unberührt, im medialen basalen Hypothalamus um 26,6% vermindert und in der medianen Eminenz auf 214 % erhöht.

Abbildung 8 zeigt die entsprechenden Ergebnisse für kastrierte Kontroll- und Hunger-ratten. Auch hier bleibt der LHRH-Gehalt der präoptischen Area unverändert durch die Gewichtsreduktion

(hier -28,4%), ist jedoch insgesamt 33% niedriger als bei den unkastrierten Kontrolltieren. Im medialen basalen Hypothalamus der ernährten kastrierten Tiere ist die LHRH-Konzentration gegenüber den unkastrierten Kontrolltieren um 29,6% vermindert und nach Mangelernährung auf 112,9% erhöht. In der medianen Eminenz der kastrierten Ratten ist der LHRH-Gehalt, wieder verglichen mit den unkastrierten Kontrolltieren, auf 188% bei den ernährten und auf 377% bei den mangelernährten angestiegen.

Durch die Kastration sinkt die Testosteronkonzentration im Serum, sowohl bei den ernährten als auch bei den mangelernährten Tieren drastisch ab. Mit Werten zwischen 0,6 und 0,8 ng/ml Serum werden noch niedrigere Werte wie in den unkastrierten mangelernährten Ratten erreicht. Der Restspiegel von Testosteron im Serum der kastrierten Tiere dürfte die Steroidsyntheseaktivitäten der Nebennierenrinde darstellen. Auch bei den kastrierten Tieren wurde zusätzlich die LH-Konzentration im Serum ermittelt: entsprechend den außerordentlich niedrigen Testosteronspiegeln wurde in den ernährten Tieren ein 527-prozentiger und in den mangelernährten ein 207-prozentiger LH-Anstieg ermittelt.

2.1.4. Feedback-Schwelle der Hypothalamus-Hypophysen-
 Gonaden-Achse

Die LH-Werte im Versuch 2.1.1.3. der kastrierten mangelernährten Ratten zeigen, daß das LH aus der Hypophyse ausgeschüttet wird, wenn durch Kastration die negative Feedback Wirkung des Testosterons wegfällt. Die folgenden beiden Versuche dienten dazu, den Testosteron-Schwellenwert zu ermitteln, ab dem die Funktion des Steroidhormons als Blockierer der LH-Ausschüttung nicht mehr zum Tragen kommt. Dazu wurden die Ratten kastriert und durch Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln verschiedener Länge verschiedene, konstante Testosteronspiegel eingestellt und deren Auswirkung auf den hypophysären LH-Release ermittelt.

2.1.4.1. Einstellung konstanter Testosteronspiegel mittels
 Implantation von Testosteronkapseln nach Kastration

In diesem Versuch wurde ermittelt, mit welcher Kapsellänge jeweils in den ernährten und in den unterernährten Tieren welche Testosteronspiegel erzielt werden. Die Kapseln wurden aus Silikonschlauch, Innendurchmesser 2mm, Wandstärke 1 mm, hergestellt, der mit zylindrischen, nicht rostenden Stahlstücken verschlossen war. Die Kapseln wurden mit kristallinem Testosteron gefüllt und vor Gebrauch eine Nacht lang in destilliertem Wasser gewässert, um an der Außenseite befindliche Testosteronkristalle zu entfernen.

Sechzig Ratten wurden kastriert und verschieden lange Testosteronkapseln unter die Rückenhaut implantiert (siehe 4.2.2.2.) Nach einem Tag Erholungszeit wurde die Hälfte der Tiere über fünf Tage ausgehungert und die andere Hälfte normal ernährt. Am fünften Tag wurden alle Tiere dekapitiert und die Testosteronkonzentration im Serum ermittelt.

Die Tabelle 4 und die Abbildung 9 geben wieder, welche der kastrierten Tiere mit welcher Kapsellänge implantiert waren und welche Testosteronspiegel im Serum dieser Ratten erzielt wurden.

Tabelle 4

Gruppe		Länge der Testosteron- Kapsel (cm)	End- gewicht (g)	Testosteron (ng/ml) [±] SEM
ernährt	1	0,00	222	0,66 ([±] 0,05)
	2	0,65	226	1,35 ([±] 0,07)
	3	1,00	223	1,55 ([±] 0,41)
	4	2,65	213	3,12 ([±] 0,69)
	5	5,30	218	6,00 ([±] 0,92)
mangel- ernährt	6	0,00	154	0,73 ([±] 0,05)
	7	0,40	157	1,62 ([±] 0,19)
	8	0,60	158	1,81 ([±] 0,42)
	9	1,60	169	3,82 ([±] 1,50)
	10	3,20	163	6,55 ([±] 2,45)

Tab 4: Einstellung verschiedener konstanter Testosteronspiegel durch Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln in kastrierte ernährte und mangelernährte Ratten. Jede Gruppe bestand aus n=6 Tieren.

Abbildung 9

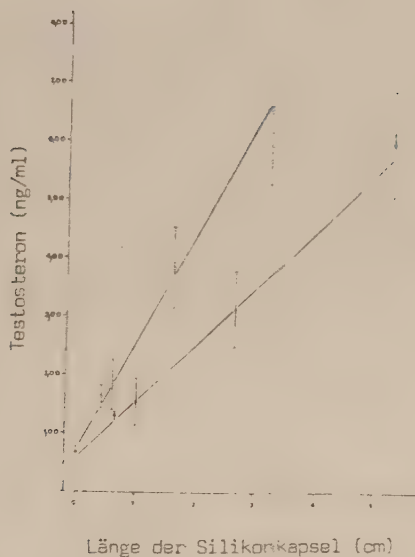


Abb. 9: Graphische Darstellung der Werte aus Tabelle 4

Abbildung 9 veranschaulicht, daß in den mangelernährten Ratten kürzere Testosteron-kapseln ausreichen, um z.B. eine gleich hohe Testosteronkonzentration wie in den normalernährten Tieren zu erhalten. Bringt man den Resttestosteronwert (0,6 - 0,8 ng/ml) nicht gonadalen Ursprungs in Abzug, so läßt sich erkennen, daß sich in den unterernährten Tieren, mit hier einer Gewichtsreduktion von 27,4%, mit jeder Kapsellänge genau eine doppelt so hohe Testosteronkonzentration wie in den normalernährten Ratten erzielen läßt.

2.1.4.2. Ermittlung der Feedback-Schwelle nach fünf
Tagen Nahrungskarrenz

Um die Rückkoppelungswirkung von Testosteron auf die Hypophyse und die hypothalamische LHRH-Konzentration zu ermitteln, wurde aus dem Versuch 2.3.1.2. zusätzlich die LH-Konzentration im Serum bestimmt. Ferner waren von allen Versuchstieren die medianen Eminenzen entnommen und eingefroren worden. Der LHRH-Gehalt der medianen Eminenzen wurde wie unter 4.3.3. beschrieben, bestimmt.

Abbildung 10

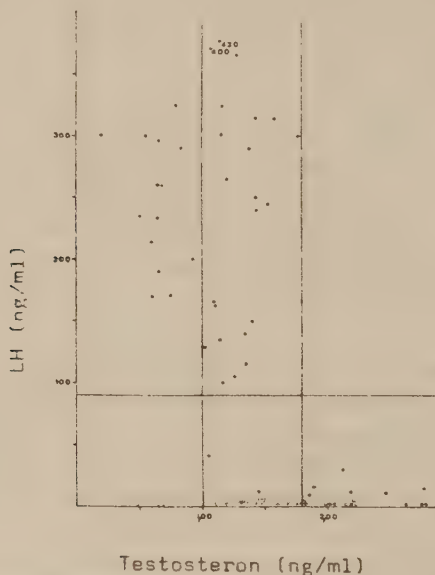


Abb. 10: LH-Konzentration im Serum von ernährten (o) und mangelernährten Ratten (•) bei verschiedenen Testosteronspiegeln

Die Abbildung 10 zeigt die LH-Werte, die in den einzelnen Tieren mit den verschieden langen Testosteronimplantaten erreicht wurden. Es wird deutlich, daß in den Kontrolltieren bei Testosteronkonzentrationen die größer als 1,8 ng/ml sind,

Abbildung 11 zeigt die LHRH-Mengen der medianen Eminenz, die in den ernährten und mangelernährten Tieren mit den konstant eingestellten Testosteronkonzentrationen zu korrelieren sind. Hier zeigt sich, daß bei Testosteronwerten von 1,62 und 1,81 ng/ml in den ausgehungerten Tieren die LH-Supprimierung noch voll wirksam ist. Die LHRH-Konzentration in der medianen Eminenz dagegen ist bereits schon erhöht.

Bei den unterernährten Tieren mit Leerkapselimplantaten ist die LHRH-Konzentration noch höher, während sie in den ernährten Tieren mit Leerimplantaten nur den halb so hohen Wert erreicht. Dieses Teilergebnis stimmt mit den Resultaten in Versuch 2.1.3. bei kastrierten Ratten überein. Bei den kastrierten, nicht Testosteron-substituierten, ernährten Tieren löst die halb so hohe LHRH-Konzentration eine doppelt so hohe LH-Ausschüttung aus, wie in den mangelernährten. Bei diesen ist, im Vergleich mit den ernährten Ratten, eine doppelt so hohe LHRH-Konzentration in der medianen Eminenz erforderlich um halb so viel LH auszuschütten.

Die LHRH-Konzentrationen in der präoptischen Area und im basalen Hypothalamus wurden auch hier bei den ernährten und mangelernährten Ratten bestimmt. Es konnten jedoch in diesen Hirnarealen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Dies war ausschließlich im Bereich der medianen Eminenz der Fall.

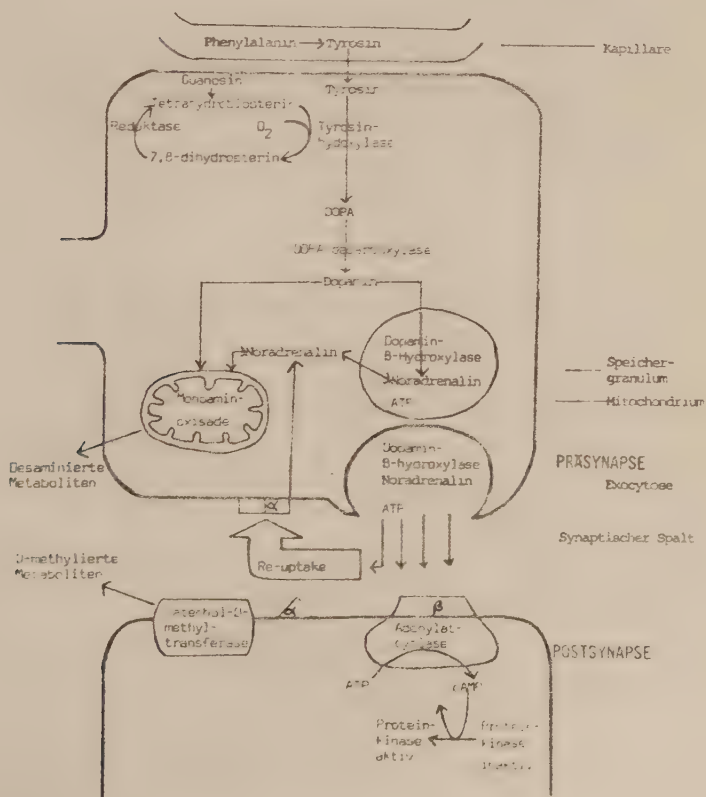
2.2. LHRH-Sekretion und Einfluß katecholaminerger Neuronen im Hungerzustand

Die vorhergehenden Versuche mit ihren Ergebnissen legen den Schluß nahe, daß nach fünf Tagen Mangelernährung die Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse in der hypothalamischen Ebene ihren Ursprung haben muß. Die beteiligten endokrinen Drüsen, Hypophyse und Gonaden, haben sich als funktions-tüchtig erwiesen. Das für die LH-Ausschüttung notwendige LH-Releasing Hormon ist ebenfalls in reichlichem Maß in der medianen Eminenz vorhanden. Es scheint jedoch nicht ausgeschüttet zu werden. Die Ausschüttung von LHRH aus der medianen Emi-

nenz in das Portalgefäßsystem wird durch verschiedene Neurotransmitter stimuliert bzw. inhibiert. Von den Katecholaminen Dopamin und Noradrenalin ist ein stimulierender Effekt auf die LHRH-Neuronen bekannt. Veränderungen bezüglich der katecholaminergen Neurotransmitter durch die fünf-tägige Mangelernährung wurden in den nachfolgenden Experimenten untersucht.

2.2.1. Bestimmung des Umsatzes von Dopamin und Noradrenalin durch selektive Katecholamin-Synthese-Blockade mit α -Methyl-p-Tyrosin

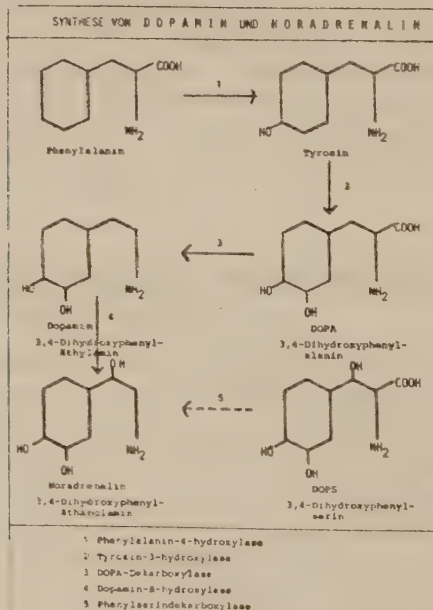
Abbildung 12



Die LHRH-Neuronen werden durch die Transmitterstoffe Dopamin und Noradrenalin stimuliert. Die beiden Katecholamine werden aus der aromatischen Aminosäure Phenylalanin aufgebaut. Aus Phenylalanin entsteht durch die Wirkung der mischfunktionellen Oxygenase Phenylalaninhydroxylase mit ihrem Coenzym Dihydrobiopterin das Tyrosin. Aus diesem entsteht durch eine weitere Hydroxylierung das 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA), aus dem durch Dekarboxylierung das Dopamin (3,4-Dihydroxyphenyläthylamin) gebildet wird. Durch wiederum einen Hydroxylierungsschritt kann Dopamin direkt in Noradrenalin(3,4-Dihydroxyphenyläthanolamin) übergeführt werden.

Noradrenalin kann jedoch auch durch Dekarboxylierung von 3,4-Dihydroxyphenylserin (DOPS) entstehen.

Abbildung 13



Durch α -Methyl-p-Tyrosin läßt sich die Tyrosinhydroxylase inhibieren und somit die Synthese der beiden Katecholamine Dopamin und Noradrenalin blockieren. Vergleicht man die Katecholaminspiegel von unbehandelten Tieren mit denen von α -Methyl-p-Tyrosin behandelten, so läßt die Ausschaltquote indirekt auf den Stoffumsatz (turnover) dieser Neuronen schließen. Bei einem niedrigen turnover ist die Differenz zwischen behandelten und unbehandelten Tieren sehr gering.

In den nachfolgenden Versuchen wurde der Dopamin- und Noradrenalinumsatz in verschiedenen Hirnarealen der Ratte mit Hilfe von α -Methyl-p-Tyrosin bestimmt. Der statistische Vergleich des Katecholamin-turnovers zwischen ernährten und mangeler-nährten Tieren wurde in Anlehnung an Rance et al. 1981 durchgeführt.

Mit Hilfe der folgenden Formel erfolgte die Berechnung des Unterschiedes zwischen der Differenz zwischen NaCl- und α -Methyl-p-Tyrosin - gespritzten Kontrolltieren und der Differenz zwischen NaCl- und α -Methyl-p-Tyrosin - behandelten Hungertieren:

Abbildung 14

$$X = \frac{(A-B) - (C-D)}{\sqrt{(a-1)SA^2 + (b-1)SB^2 + (c-1)SC^2 + (d-1)SD^2}} \times \sqrt{\frac{a+b+c+d-4}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}}$$

wobei gilt:

A	(Mittel)wert der Katecholaminkonzentration der Gruppe	+N ₁ +NaCl
B	"	+N ₂ + α MPT
C	"	-N ₁ +NaCl
D	"	-N ₂ + α MPT
a	Anzahl der Tiere von Gruppe A	
b	"	B
c	"	C
d	"	D
SA	Standardabweichung der Gruppe A	
SB	"	B
SC	"	C
SD	"	D

Mit dem T-Test nach Student wurde auf signifikante Unterschiede der Differenzen geprüft.

2.2.1.1. Katecholaminspiegel- und Umsatz nach fünf Tagen Nahrungskarrenz

In diesem Versuch wurden die LHRH-haltigen Regionen, präoptische Area, medialer basaler Hypothalamus und mediane Eminenz auf ihren Katecholaminspiegel- und turnover hin untersucht, um eventuelle durch den Mangelerlernährungszustand hervorgerufene Veränderungen feststellen zu können. 24 Ratten wurden über 5 Tage ausgehungert und 24 Kontrolltiere wurden normal ernährt. Am fünften Tag wurde jeweils die Hälfte jeder Gruppe morgens um 8⁰⁰ h i.p. mit α -Methyl-p-Tyrosin (250 mg/kg Körpergewicht) und die andere Hälfte mit 0,9 prozentiger Kochsalzlösung injiziert. α -Methyl-p-Tyrosin ist nicht in pH-neutralen Lösungen, jedoch im stark alkalischen Milieu löslich. Das α -Methyl-p-Tyrosin (Fa. Merck) wurde deshalb in einem Aliquot 4 N Natronlauge gelöst, der pH-Wert wurde mit 4 N Salzsäure bis kurz vor dem Ausflocken auf ca. pH 9,0 reduziert und die Lösung anschließend mit destilliertem Wasser auf das Endvolumen verdünnt.

Nach drei Stunden wurden die Tiere dekapitiert. Die Gehirne wurden entnommen und nach dem Abschneiden der medianen Eminenz (siehe 4.2.3.) in Aluminiumfolie auf Trockeneis eingefroren. Aus den gefrorenen Gehirnen wurden die präoptische Area und der basale Hypothalamus zylindrisch (siehe 4.2.3.) ausgestochen. Zusätzlich wurde in entsprechender Weise jeweils ein Stück Kortex ausgestanzt.

Aus der präoptischen Area, dem basalen Hypothalamus und der medianen Eminenz wurden Dopamin und Noradrenalin über radioenzymatische Methylierung und anschließende Auftrennung durch zweidimensionale Dünnschichtchromatographie wie unter 4.3.4. beschrieben, bestimmt. Aus dem Cortexstück wurde nur Noradrenalin bestimmt, da dopaminerge Neuronen in diesem Bereich nicht vorhanden sind.

Abbildung 15

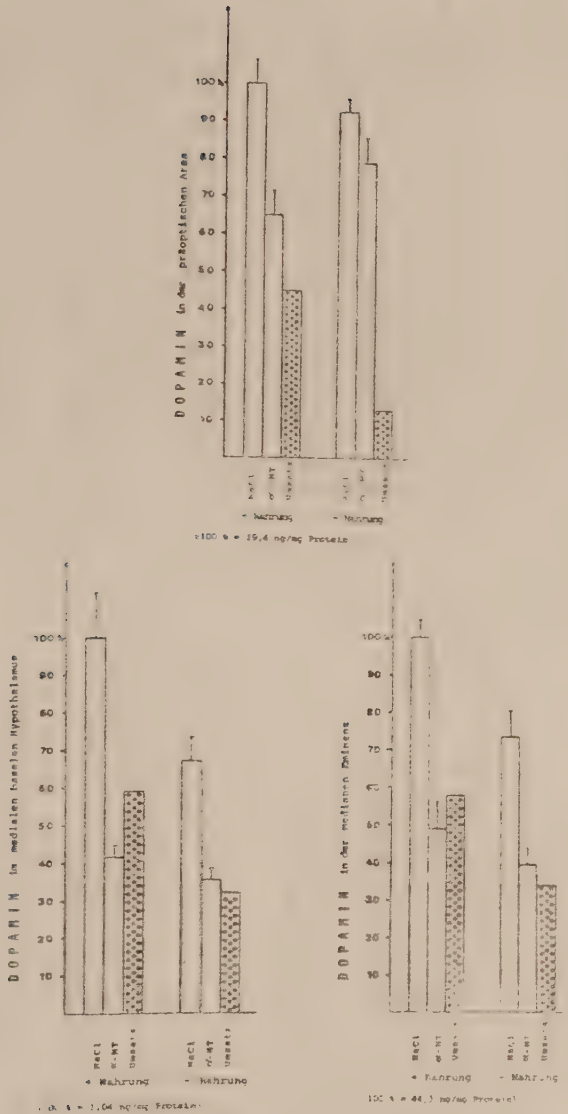


Abb. 15: Dopaminspiegel (NaCl) und Umsatz (::::) in der präoptischen Area, im medialen basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz von ernährten und mangelernährten Ratten. Der Umsatz ist die Differenz aus der NaCl- und der α -Methyl-p-Tyrosin (x-MT) behandelten Gruppe. Jede Gruppe bestand aus n=6 Tieren.

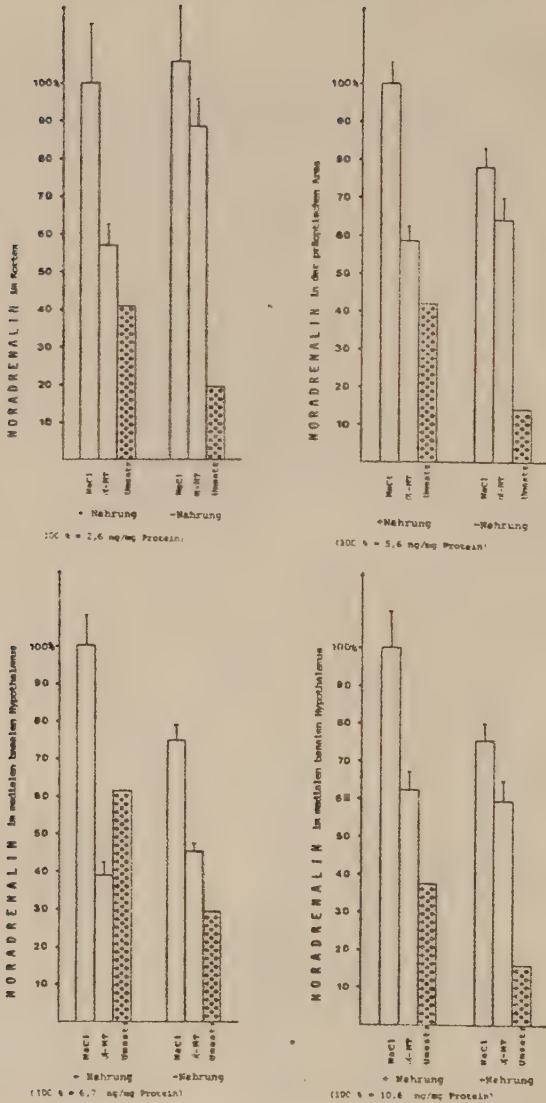


Abb. 16: Noradrenalin-(NaCl) und Umsatz (::::) im Kortex, in der präoptischen Area, im medialen basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz von ernährten und mangelernährten Ratten. Der Umsatz ist die Differenz aus der NaCl- und der X-Methyl-p-Tyrosin (X-MT) behandelten Gruppe. Jede Gruppe bestand aus n=6 Tieren.

Abbildung 15 zeigt den Dopaminspiegel- und Umsatz in der präoptischen Area, im medialen basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz. Der Umsatz ist gepunktet dargestellt. Die in ng/mg Protein gemessenen Werte sind hier jeweils in Prozent dargestellt, um einen besseren Vergleich zwischen den drei Bereichen möglich zu machen. Dabei wurde die in den Kontrolltieren gemessene Dopaminmenge als 100 % gesetzt. Aus Abbildung 15 ist zu ersehen, daß nach fünf Tagen Nahrungskarrenz sowohl der Dopaminspiegel, als auch der Dopaminumsatz in allen drei Hirnbereichen signifikant absinkt ($p < 0,01$). Dabei ist die Verminderung des Umsatzes in der medianen Eminenz am deutlichsten ausgeprägt.

Abbildung 16 zeigt den Noradrenalinspiegel- und Umsatz in den ausgehungerten Tieren, der in der präoptischen Area, im medialen basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz ebenfalls signifikant ($p < 0,01$) erniedrigt ist. Der Noradrenalin s p i e g e l im Kortex bleibt trotz Mangelernährung unverändert, die Veränderung des Umsatzes ist in diesem Bereich nicht signifikant.

2.2.1.2. Veränderungen des Katecholaminspiegels und Umsatzes im Verlauf von fünf Tagen Nahrungskarrenz

Nach 0, 1, 2, 3, 4 und 5 Tagen Nahrungsentzug wurden jeweils 10 Tiere i.p. mit physiologischer Kochsalzlösung injiziert und 10 Tiere mit α -Methyl-p-Tyrosin, entsprechend dem vorhergehenden Versuch. Die Veränderungen von Noradrenalin und Dopamin wurden in diesem Versuch nur für den basalen Hypothalamus bestimmt.

Abbildung 17

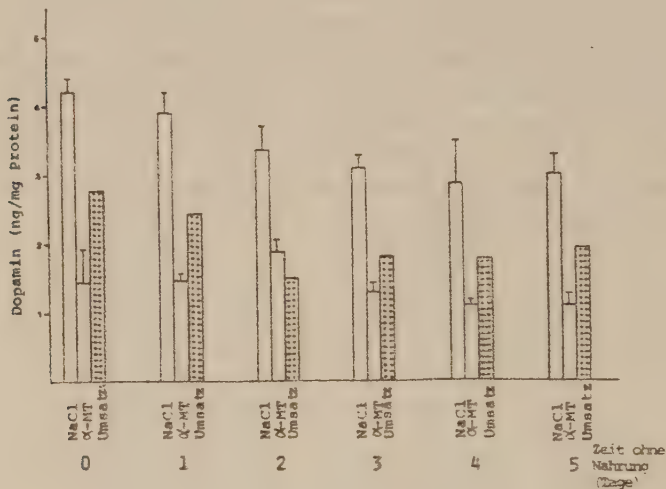


Abbildung 17 gibt die Ergebnisse dieses Versuches wieder. Die gemessene Dopaminmenge ist in ng/mg Protein angegeben. Der Dopaminspiegel sinkt von ersten bis zum vierten Tag der Mangelernährung kontinuierlich ab und bleibt dann gleich. Der Dopaminumsatz sinkt am ersten und zweiten Tag ab und stabilisiert sich dann.

Abbildung 18

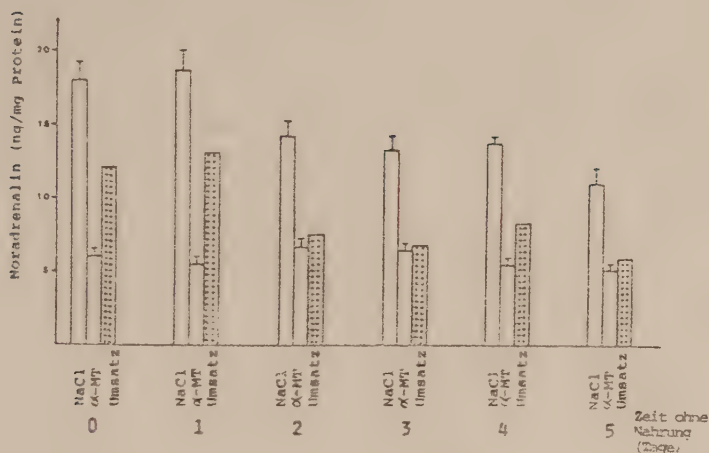


Abbildung 18 gibt die Ergebnisse dieses Zeitverlaufversuches für Noradrenalin im medialen basalen Hypothalamus wieder. Die Konzentration des Noradrenalins sinkt erst am zweiten Tag der Nahrungskarrenz sehr deutlich ab und bis zum fünften Tag ist eine weniger deutliche, weitere Reduzierung zu beobachten.

Der Noradrenalinumsatz geht ebenfalls am zweiten Tag sehr stark zurück und vermindert sich bis zum fünften Tag nur noch sehr wenig.

2.2.2. Pharmakologische Beeinflussung der LH-Sekretion

Die monoaminen Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin haben einen stimulierenden Einfluß auf die LHRH-Ausschüttung aus der medianen Eminenz und somit auch auf die LH-Sekretion aus der Adenohypophyse. Die Ergebnisse der Versuche 2.2.1.1. und 2.2.1.2. zeigen, daß durch Mangelerkennung die Konzentration und der Umsatz dieser beiden Katecholamine in den Hirnarealen, in denen sich die LHRH-Neuronen befinden, signifikant vermindert sind.

Es liegt nahe, von diesem verminderten Katecholaminaufkommen auf eine verminderte Stimulation der LHRH-Neuronen zu schließen. Der Mangel müßte durch Substitution mit Dopamin- bzw. Noradrenalin-Vorstufen oder durch Verabreichung eines α -noradrenergen Agonisten aufhebbar sein.

Von Ojeda et al. 1979 wurde auch eine stimulierende Wirkung eines Prostaglandins der E-Reihe (PGE_2) auf die LHRH-Ausschüttung beschrieben.

In den folgenden Versuchen wurde die pharmakologische Beeinflußbarkeit der LH-Ausschüttung in mangelerkennenden Ratten mit entsprechenden Mitteln untersucht.

2.2.2.1. Wirkung von DOPA, DOPS und Clonidin auf die LH-Sekretion nach fünf Tagen Nahrungskarrenz

In diesem Versuch wurde der Katecholaminmangel durch Verabreichung von Vorstufen und einer agonistisch wirkenden Substanz substituiert. Als gemeinsame Vorstufe beider Katecholamine wurde Dihydroxyphenylalanin (DOPA) 100 mg/kg i.p. gespritzt, als Vorstufe von Noradrenalin 3,4-Dihydroxyphenylserin (DOPS) 200 mg/kg i.p. und als α -adrenerger Agonist Clonidin 150 μ g/kg s.c. appliziert. DOPA und DOPS wurden in gleicher Weise wie α -Methyl-p-Tyrosin erst in 4 N NaOH gelöst, mit 4 N HCl auf ca. pH 9 heruntertitriert und mit destilliertem Wasser auf das Endvolumen gebracht. Clonidin (Katapresan) liegt gelöst vor und wurde in einer Dosierung von 150 μ g/kg i.p. verabreicht. Die Kontrolltiere erhielten 0,9 % NaCl.

Die verschiedenen Tests wurden mindestens dreimal wiederholt. Die NaCl, DOPA und DOPS-behandelten Tiere wurden nach drei Stunden dekapitiert, die Clonidin-behandelten nach einer Stunde. Die LH-Konzentration im Plasma wurde bestimmt, um eine eventuelle Wirkung der Substanzen festzustellen. Tabelle 5 gibt wieder, welche LH-Werte mit welcher Substanz erreicht wurden.

Tabelle 5

substituiert mit:	ernährt	mangel- ernährt
	LH (ng/ml) ± SEM	LH (ng/ml) ± SEM
NaCl 0,9%	18,8 (±9,8)	0,5 (±0,5)
DOPA	23,3 (±5,7)	0,3 (±0,3)
DOPS	5,4 (±2,6)	0,4 (±0,4)
Clonidin	./.	0,0 (±0,0)

Tab. 5: Jede Gruppe bestand pro Versuch aus n=6 Tieren. Die Versuche mit den ernährten Ratten wurden 1 mal durchgeführt und die Versuche mit den mangelernährten 6 mal mit NaCl, 4 mal mit DOPA, 3 mal mit DOPS und 2 mal mit Clonidin. Die Gewichtsreduktion betrug durchschnittlich - 25 %.

Die Ergebnisse in Tabelle 4 zeigen, daß weder die Substitution mit DOPA, noch mit DOPS, noch mit Clonidin die erwartete LH-Ausschüttung ausgelöst hat. Die LH-Konzentration im Serum bleibt völlig unbeeinflusst unter bzw. in der Nähe der Nachweisgrenze.

2.2.2.2. Wirkung von DOPA und DOPS bei künstlich eingestelltem Testosteronspiegel nach fünf Tagen Nahrungskarrenz

Der vorhergehende Versuch zeigt, daß Gaben von Katecholaminprekursoren nach fünf Tagen Mangelernährung keine Stimulation der LHRH-Neuronen verursachen.

Die Rezeptoren für die Neurotransmitter des basalen Hypothalamus stehen unter dem modulierenden Einfluß der Steroidhormone. (Duffy et al. 1976) Deshalb wurde in diesem Versuch getestet, ob DOPA und DOPS eventuell doch wirksam werden könnten, wenn in den mangelernährten Tieren ein normaler Testosteronspiegel im Serum vorläge.

Dazu wurden drei Gruppen von Ratten mit n=6 Tieren kastriert und jeweils eine Testosteronkapsel von 0,3 cm Länge implantiert. Nach einem Tag Erholungszeit wurden die Tiere fünf Tage mangelernährt. Am fünften Tag erhielt die mangelernährte Kontrollgruppe NaCl, während die beiden anderen ausgehungerten Gruppen DOPA, bzw. DOPS in der gleichen Dosierung wie in Versuch 2.2.2.1. erhielten.

Tabelle 6

substituiert mit:	Testosteron (ng/ml) $\pm$ SEM	LH (ng/ml) $\pm$ SEM
NaCl	2,02 ($\pm$ 0,15)	0,0
DOPA	1,66 ($\pm$ 0,19)	0,0
DOPS	1,79 ($\pm$ 0,20)	0,0

Tab. 6: Kastrierte, testosteronsubstituierte Ratten erhielten nach fünf Tagen Nahrungskarrenz NaCl, DOPA bzw. DOPS. Jede Gruppe bestand aus n=6 Tieren. Die Gewichtsreduktion betrug -23,1 %.

Die Ergebnisse aus Tabelle 5 zeigen, daß auch bei künstlich kompensiertem Testosteronspiegel die Katecholaminvorstufen DOPA und DOPS wirkungslos bleiben.

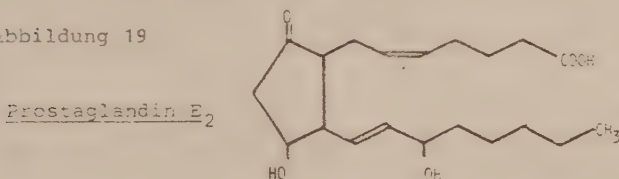
2.2.2.3. Beeinflussung der LHRH-Sekretion mit Prostaglandin E₂ nach 3 und 5 Tagen Nahrungskarrenz

Die Ausschüttung von LHRH aus den Terminalen der LHRH-haltigen Neuronen in der medianen Eminenz wird durch Prostaglandin E₂ stimuliert. (siehe oben). Dabei wird eine direkte Stimulation der LHRH-Neuronen und eine indirekte Beeinflussung über nor-

adrenerge Neuronen diskutiert. (Ojeda et al.1979).

Prostaglandine sind ungesättigte Fettsäuren, bestehend aus 20 C-Atomen, von denen fünf in der Mitte des Moleküls zu einem Ring geschlossen sind.

Abbildung 19



Prostaglandine entstehen aus der 18-C-atomigen essentiellen Fettsäure Linolsäure, die doppelt ungesättigt ist und nur in Pflanzen vorkommt. Durch Verlängerung um zwei weitere C-Atome entsteht die Dihomo- γ -Linolensäure, aus der durch Desaturierung die vierfach ungesättigte Arachidonsäure entsteht. Aus der Arachidonsäure wird durch die Wirkung der Cyclooxygenase, neben Thromboxan und Prostacyclin, das Prostaglandin E₂ gebildet.

PGE₂ spielt bei der Ausschüttung des LH-Releasing Hormones eine Rolle. Der Mechanismus ist jedoch noch nicht ganz geklärt. Nach Bergström et al. 1973 hat PGE₂ im Gehirn einen modulierenden Einfluß auf die Noradrenalin-ausschüttung, während nach Ojeda et al. 1979 die stimulatorische Wirkung von Dopamin und Noradrenalin auf die LHRH-Ausschüttung durch PGE₂ vermittelt werden soll.

In diesem Versuch wurden die Ratten nach drei und nach fünf Tagen Nahrungsmangel mit 2,5 mg PGE₂/kg Körpergewicht i.p. gespritzt. Verwendet wurde dazu Prostaglandin E₂ (Prosta-5,13-dien-1-oic acid, 11,15-dihydroxy-9-oxo/5Z,11a.13E,15S) Anhydr. Mol.Wt. 352,5 der Firma Sigma, USA. Das dehydrierte Prostaglandin wurde in 0,9 prozentiger Kochsalzlösung gelöst. (10 mg in 10 ml). Die Tiere wurde nach einer halben Stunde Wirkzeit dekapitiert und die LH-Konzentration im Serum ermittelt. Zum Vergleich wurde die LH-Konzentration im Serum von unbehandelten, ernährten Tieren mitbestimmt.

Tabelle 7

♂	mit Nahrung	3 Tage ohne Nahrung		mit Nahrung	5 Tage ohne Nahrung	
		+NaCl	+PGE ₂		+NaCl	+PGE ₂
LH (ng/ml) ± SEM	23,5 (±3,8) n=6	6,9 (±3,5) n=6	59,3 (±8,9) n=6	18,6 (±9,8) n=6	0,5 (±0,1) n=6	21,5 (±7,5) n=6

Tab. 7: LH-Konzentration im Serum von Ratten, die drei und fünf Tage lang ausgehungert wurden und mit 0,9 prozentiger Kochsalzlösung bzw. Prostaglandin E₂ (2,5 mg PGE₂/kg Körpergewicht) i.p. behandelt wurden.
Jede Gruppe bestand aus n=6 Tieren.

Die Ergebnisse aus Tabelle 7 zeigen, daß durch die Applikation von PGE₂ nach drei Tagen Mangelernährung die LH-Ausschüttung wieder in Gang gebracht werden kann. Der LH-Spiegel übersteigt in dieser Dosierung von 2,5 mg PGE₂/kg sogar den Vergleichswert der ernährten Kontrollgruppe um 52,3 %.

Auch nach fünf Tagen Mangelernährung ist das Prostaglandin immer noch voll wirksam. Der LH-Spiegel der ernährten Kontrollgruppe wird jedoch nur noch um 14,4 % überschritten.

2.2.2.4. Beeinflussung der LHRH-Sekretion mit Prostaglandin E₂ in testosteronsubstituierten Ratten nach 5 Tagen Nahrungskarrenz

In diesem weiteren Versuch wurden pro Gruppe 6 Ratten kastriert und je eine 0,3 cm lange Testosteronkapsel unter die Haut implantiert. Die Tiere wurden nach einem Tag Erholungszeit über fünf Tage mangelernährt. Es sollte mit den Kapseln ein Testosteronspiegel erzielt werden, der dem Normalspiegel in ernährten Tieren entspricht. Am fünften Tag der Nahrungskarrenz wurden die Tiere mit PGE₂ (2,5 mg/kg i.p.) bzw. mit 0,9 % NaCl behandelt und nach einer halben Stunde dekapitiert. Der Testosteron- und der LH-Spiegel im Serum wurden bestimmt.

Tabelle 8

$\pm 0,3$ cm Testosteronkapsel 5 Tage ohne Nahrung	+ NaCl	+ PGE_2
Testosteron (ng/ml) $\pm$ SEM	2,02 ($\pm 0,15$) n=9	2,41 ($\pm 0,31$) n=6
LH (ng/ml) $\pm$ SEM	0,00 ($\pm 0,00$) n=9	0,68 ($\pm 0,67$) n=6

Tab. 8: Testosteron- und LH-Konzentration im Serum von Ratten, die kastriert und mit 0,3 cm langen testosteronhaltigen Silikonkapseln substituiert waren. Die Kontrollgruppe war mit 0,9 prozentiger Kochsalzlösung behandelt worden, die Testgruppe mit 2,5 mg PGE_2 /kg Körpergewicht i.p.

Tabelle 8 gibt die Ergebnisse dieses Versuches wieder. In der NaCl-Gruppe hatte sich durch die Implantation der 0,3 cm langen Testosteronkapsel ein Testosteronspiegel von 2,02 ng/ml Serum eingestellt und in der PGE_2 -gruppe von 2,41 ng/ml Serum. Dies entspricht dem Testosteronspiegel in unkastrierten, ernährten Tieren (vergleiche Tabelle 1).

Bei diesem Testosteronspiegel in Normalhöhe zeigte sich die Behandlung der mangelernährten Ratten mit PGE_2 als unwirksam. Es erfolgt hier keine Erhöhung des LH-Spiegels. Die LH-Konzentration bleibt wie in der NaCl-Kontrollgruppe mit 0,68 ng/ml unter der Nachweisgrenze.

Bei Vorhandensein eines normalhohen Testosteronspiegels in fünf Tage mangelernährten Ratten, gelingt es nicht mehr, mit 2,5 mg PGE_2 /kg eine LHRH- bzw. LH-Ausschüttung auszulösen.

2.2.3. Veränderungen der alpha-noradrenergen Rezeptoren
des medialen basalen Hypothalamus durch fünf-
tägige Nahrungskarrenz

Der katecholaminerge Transmitter Noradrenalin stimuliert die LHRH-Ausschüttung. Noradrenerge Neuronen schütten auf einen stimulierenden Reiz hin Noradrenalin aus ihren Terminalen aus. Die Kontaktstellen der Terminalen auf anderen Neuronen heißen Synapsen. Die Neuronen berühren sich an den Synapsen nicht direkt. Ein kleiner Zwischenraum, der synaptische Spalt, bleibt frei. Auf dem nachgeschalteten Neuron befinden sich die sogenannten postsynaptischen Rezeptoren für Noradrenalin. Wird also Noradrenalin vom noradrenergen Neuron in den synaptischen Spalt ausgeschüttet, so kann es von den postsynaptischen Rezeptoren erkannt und gebunden werden. Ferner gibt es auf den noradrenergen Neuronen sogenannte präsynaptische noradrenerge Rezeptoren, auch α_2 -Adrenozeptoren oder Autorezeptoren, genannt, die für die Wiederaufnahme (reuptake) des Noradrenalins verantwortlich sind. (Langer 1973). Hier werden die Noradrenalinmoleküle nach einer Ausschüttung wieder in das Neuron aufgenommen und metabolisiert, so daß die Situation im synaptischen Spalt wieder geklärt ist, d.h. wieder frei für einen neuen noradrenergen Impuls.

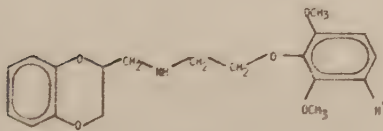
Die Versuche 2.2.1.1. und 2.2.1.2. zur Bestimmung der Katecholaminspiegel und des Umsatzes haben gezeigt, daß nach fünf Tagen Nahrungskarrenz neben Dopamin auch Noradrenalin signifikant erniedrigt ist. Die anschließenden Versuche 2.2.2.1. und 2.2.2.2. mit den Katecholaminvorstufen DOPA und DOPS und dem alpha-adrenergen Agonisten Clonidin haben gezeigt, daß dieser Mangel wahrscheinlich nicht für die verminderte Stimulation der LHRH-Neuronen verantwortlich zu machen sein kann, da die Behandlung mit diesen Substanzen ineffektiv war.

In den folgenden Versuchen wurden die Wirkorte des Neurotransmitters Noradrenalin, die alpha-Adrenozeptoren, des basalen Hypothalamus auf ihre Affinität und Kapazität hin untersucht, um eventuell eine Erklärung für die Wirkungslosigkeit von DOPA, DOPS und Clonidin nach fünf Tagen Mangelerlernährung zu finden.

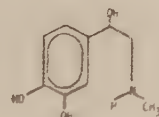
2.2.3.1. Veränderungen der postsynaptischen α -noradreneren Rezeptoren des basalen Hypothalamus durch Mangelernährung

Jeder Versuch wurde mit 60 Ratten durchgeführt, wovon die Hälfte über 5 Tage mangelernährt wurde. Kontrolltiere und ausgehungerte Tiere wurden zwischen 9° und 12° dekapitiert, die Gehirne sofort entnommen und in Aluminiumfolie auf Trockeneis mit dem Kortex nach unten so eingefroren, daß das Gehirn nicht deformiert wurde. Anschließend wurde der basale Hypothalamus wie unter 4.2.3. beschrieben, ausgestanzt. Pro Ansatz wurden 15 bzw. 20 Hypothalami gemeinsam in 30 Volumen (W/V) eiskalten 50 mM Tris-HCl-Puffer, 0,1% Ascorbinsäure, pH 7,7 bei 25° C mit einem Wheaton Glas-Glas-Potter homogenisiert und 10 Minuten bei 50.000 g pelletiert. Der Überstand wurde verworfen, das Pellet rehomogenisiert und wie beim ersten Durchgang pelletiert. Das nun vorliegende Pellet wurde in 60 fachen Volumen Puffer, wie oben, resuspendiert und so für die anschließenden Bindungsstudien verwendet.

Die Affinität und die Kapazität der postsynaptischen alpha-Adrenozeptoren des basalen Hypothalamus wurden mit dem α_1 -spezifischen (postsynaptischen) Antagonisten ^3H -WB4101, in Anlehnung an Greenberg et al. 1976 ermittelt. Die Durchführung ist unter 4.3.8.1. genauer beschrieben. Die Affinität von ^3H -WB4101 zu den postsynaptischen Adrenozeptoren ist 1000-fach höher wie die Affinität von Noradrenalin zu diesen Rezeptoren. (Starke 1981, Lefkowitz&Hoffmann 1980) Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von 100 μM (-)Noradrenalin ermittelt.



WB4101



NORADRENALIN

Vor dem Beginn der Bindungsstudien war ermittelt worden, daß sich die Bindung von ^3H -WB4101 im Bereich von 250 bis 1000 μg Protein pro Inkubationsgeschisch linear verhält.

Abbildung 21

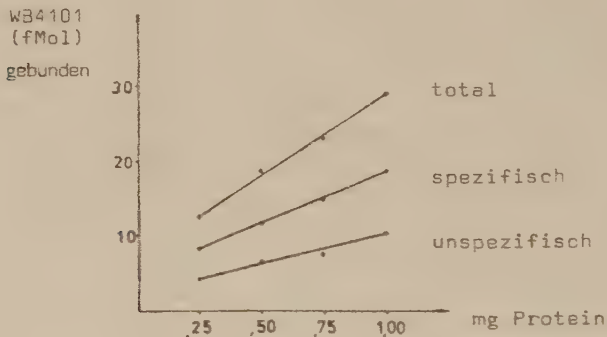


Abb. 21. Nachweis der Linearität der Bindung von ^3H -WB4101 an Material des medialen basalen Hypothalamus im Bereich vom 250-1000 μg Protein pro ml Inkubationsgemisch.

Als Beispiel einer der durchgeführten ^3H -WB4101-Bindungsstudien sind in Abbildung 22 die Daten des Versuches Nr. 1 der Tabelle 9 graphisch dargestellt. Abbildung 22 zeigt die Gesamtbindung, sowie die unspezifische Bindung und als Differenz aus diesen beiden Kurven die spezifische Bindung des postsynaptisch bindenden Antagonisten ^3H -WB4101 an das Material des medialen, basalen Hypothalamus von *ernährten* Kontrolltieren. Dabei stellt jeder Punkt den Mittelwert einer Dreifachbestimmung dar.

Abbildung 23 stellt das aus den Punkten der spezifischen Bindung ermittelte Scatchard-Plot dar, in dem die Werte "Gebunden" gegen den Quotienten "Gebunden/Frei" aufgetragen sind.

In Abbildung 22 wurde wurde die Gerade der unspezifischen Bindung einer linearen Kurvenanpassung (Hewlett-Packard-Program) unterworfen, die Werte der Gesamtbindung wurden graphisch ermittelt.

Abbildung 22

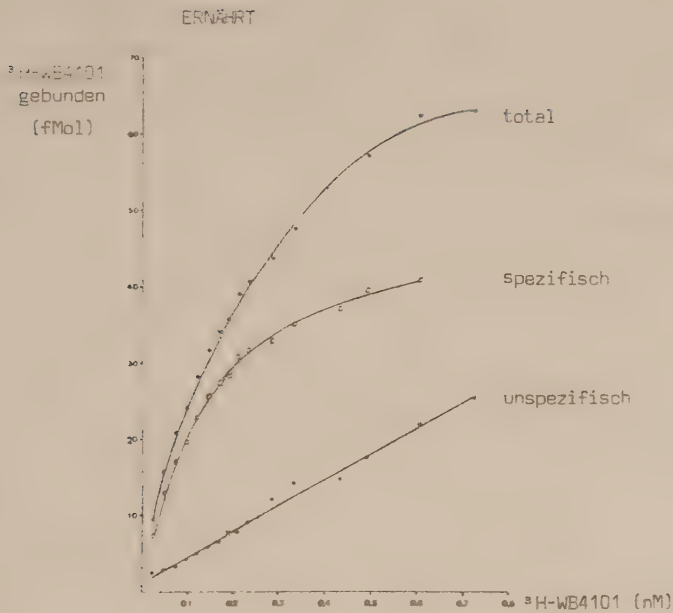


Abb.22: Graphische Darstellung einer Bindungsuntersuchung des noradrenergen Antagonisten ^3H -WB4101 an Material des medialen basalen Hypothalamus von ernährten Ratten. Die spezifische Bindung ergibt sich aus der Differenz der totalen und der unspezifischen Bindung. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von $100 \mu\text{M}$ (-)-Noradrenalin ermittelt.

Die Dissoziationskonstante K_D gibt die Stärke der Affinität des Rezeptors zum Liganden wieder. Die Dissoziationskonstante wurde mit Hilfe des Scatchard-Plots ermittelt.

$$K_D = \frac{k_1}{k_2} = \frac{(L)(R)}{(LR)}$$

wobei: k_1 = Assoziationskonstante, k_2 = Dissoziationskonstante, (L) = Konzentration der freien Liganden, (R) = Konzentration der freien Rezeptoren, (LR) = Konzentration der besetzten Bindungsstellen, K_D = Dissoziationskonstante.

Im Versuchsansatz bleibt die Rezeptoranzahl konstant, die Konzentration des Liganden $^3\text{H-WB4101}$ wird variiert. Im Scatchard-Plot werden die spezifisch gebundenen Mole $^3\text{H-WB4101}$ gegen den Quotienten spezifisch gebundenes $^3\text{H-WB4101}$ / freie Liganden $^3\text{H-WB4101}$ aufgetragen. (Cooper et al. 1978, Scatchard 1948).

Abbildung 23

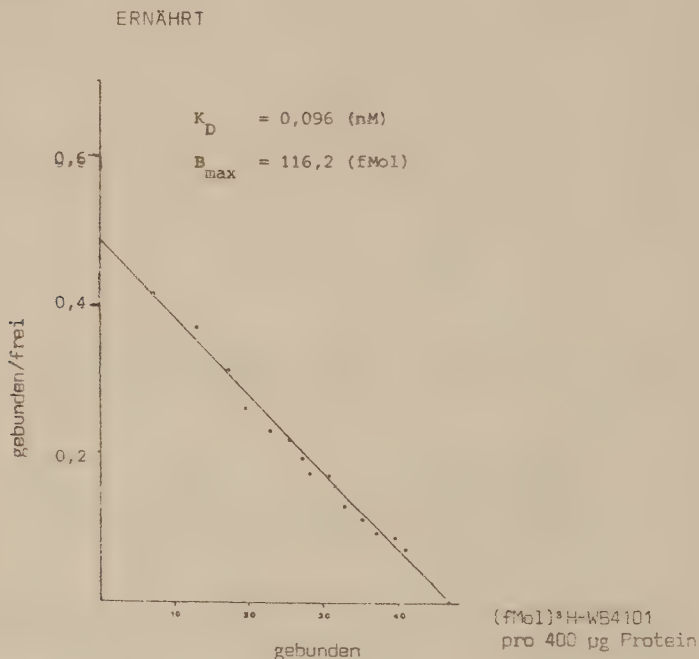


Abb.23: Scatchard-Plot zu Abbildung 21. Die Dissoziationskonstante K_D gibt das Maß der Affinität der postsynaptischen α -Adrenorezeptoren zum Liganden $^3\text{H-WB4101}$ wieder und $B_{\max}$ die maximale Kapazität, d.h. die Dichte der postsynaptischen Adrenorezeptoren.

Die Werte des Scatchard-Plots wurden ebenfalls einer linearen Kurvenanpassung unterworfen. Der Schnittpunkt mit der x-Achse gibt die maximal mögliche Bindungsanzahl bei der verwendeten Proteinmenge wieder. Aus der Steigung der Geraden (x/y) kann die Dissoziationskonstante K_D als Maß der Affinität des Re-

zeptors zum Liganden errechnet werden.

Abbildung 24 gibt die Ergebnisse der Bindungsuntersuchung Nr. 1 von ^3H -WB4101 an das Homogenat von basalen Hypothalami von Ratten, die über fünf Tage **m a n g e l e r n ä h r t** wurden, in Form eines Scatchard-Plots wieder.

Abbildung 24:

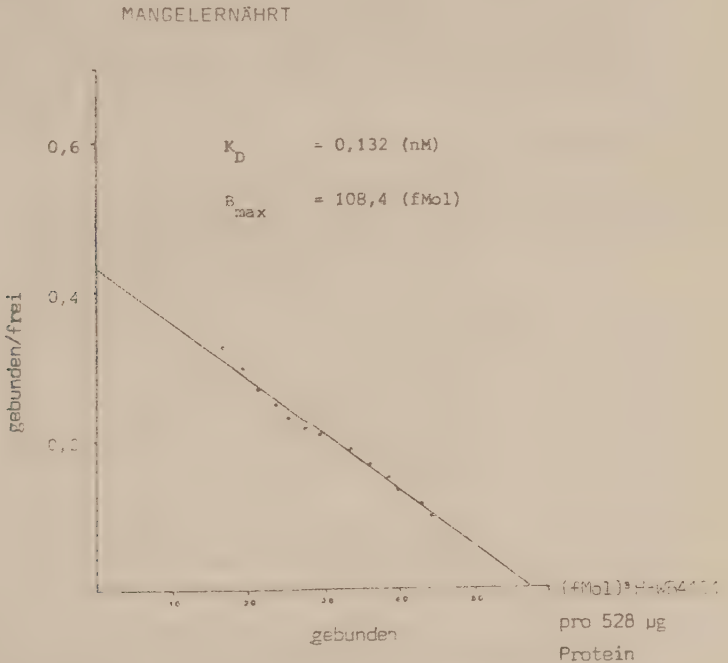


Abb. 24: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Bindungsuntersuchung Nr. 1 (Tabelle 8) in Form eines Scatchard-Plots. Hier: Bindung des noradrenergen Antagonisten ^3H -WB4101 an Material des medialen basalen Hypothalamus von **m a n g e l e r n ä h r t e n** Ratten. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von $100 \mu\text{M}$ (-)-Noradrenalin ermittelt. K_D = Dissoziationskonstante, $B_{\max}$ = Kapazität der postsynaptischen α -Adrenozeptoren.

Als Qualitätsmaß für die lineare Kurvenanpassung wurde jeweils der Korrelationskoeffizient errechnet (Optimalst $r=1,0$). Die Signifikanz der unterschiedlichen Steigung der Gerade im Scatchard-Plot der Proben von ernährten und von mangelernährten Tieren wurde mit dem t-Test bestimmt.

Die Bindungsuntersuchungen mit ^3H -WB4101 wurden für Kontroll- und Hungertiere jeweils dreimal durchgeführt, wobei zwischen 6 und 14 verschiedene Konzentrationen von ^3H -WB4101 jeweils in Dreifachbestimmung getestet wurden. Die Tabelle 9 gibt die Ergebnisse der gesamten Untersuchungen wieder.

Tabelle 9

$^3\text{H} - \text{WB} 4101$				
Versuch Nr.		Rezeptor-dichte (fMol/mg Protein)	Rezeptor-Affinität (nM)	
		B_{max}	K_D	r
ernährt	1	116,2	0,094	0,98
	2	119,8	0,107	0,99
	3	100,0	0,080	0,98
		$\bar{x} = 112,0$	$\bar{x} = 0,094$	
mangelernährt	1	108,4	0,132	0,99
	2	127,2	0,144	0,97
	3	104,0	0,132	0,98
		$\bar{x} = 113,2$	$\bar{x} = 0,136$	

Tab. 9: Ergebnisse der Bindungsuntersuchungen des noradrenergen Antagonisten ^3H -WB4101 an Rezeptoren des medioalen basalen Hypothalamus von ernährten und fünf Tage mangelernährten Ratten. Die Ergebnisse jeden Versuches stammen aus 6-14 verschiedenen Konzentrationen von ^3H -WB4101 im Bereich von 0,02 bis 0,60 nM, wobei die Bindungsmessung jeder Konzentration in dreifach-Bestimmung erfolgte. Die unspezifische Bindung von ^3H -WB4101 wurde in Gegenwart eines Überschusses von (-)Noradrenalin (100 μM) bestimmt. Die Versuche mit identischen Nummern (ernährt-mangelernährt) wurden in Parallelbestimmungen durchgeführt.

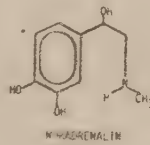
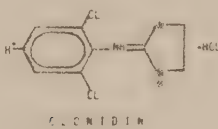
Die Rezeptoraffinität (K_D) der mangelernährten Tiere war signifikant niedriger ($p < 0,001$) als die der ernährten Tiere. Die Rezeptordichte blieb unverändert. r : Korrelationskoeffizient der linearen Kurvenanpassung des Scatchard Plots.

Die Ergebnisse der Tabelle 9 zeigen, daß sich die Rezeptordichte ($B_{\max} = 112 \text{ fMol/mg}$) der postsynaptischen Adrenozeptoren des medialen basalen Hypothalamus der Ratte durch eine fünftägige Mangelernährung nicht verändert. Die Dissoziationskonstanten sind jedoch signifikant von einander verschieden ($p < 0,001$). Die Lagen der Geraden in den Scatchard-Plots sind mit Korrelationskoeffizienten von 0,97 - 0,99 sehr sicher. Die Affinität ist von einem mittleren $K_D = 0,094 \text{ (nM)}$ bei den ernährten Kontrolltieren durch den Nahrungsentzug auf ein mittleres $K_D = 0,136 \text{ (nM)}$ reduziert, d.h. die Affinität ist um 44,7 % vermindert.

2.2.3.2. Veränderungen der präsynaptischen α -noradrenergen Rezeptoren des basalen Hypothalamus durch Mangelernährung

Auch hier wurde jeder Versuch mit 60 Ratten durchgeführt, wovon jeweils die Hälfte fünf Tage mangelernährt wurde. Das Hirnmaterial wurde in gleicher Weise wie in Versuch 2.2.3.1. entnommen und aufgearbeitet. Der Puffer hatte hier pH 7,5. Das letzte Pellet wurde in einem 50-fachen Puffervolumen aufgenommen.

Die präsynaptischen α -noradrenergen Rezeptoren wurden mit dem α_1 -spezifischen, noradrenergen Agonisten ^3H -Clonidin untersucht. Clonidin bindet überwiegend an präsynaptische Rezeptoren. Die Affinität von Clonidin zu diesen Rezeptoren ist 10 mal höher als die Affinität von (-)Noradrenalin zu ihnen. (Starke 1981)



Die unspezifische Bindung von ^3H -Clonidin an die α_2 -Adrenozeptoren des basalen Hypothalamus wurde in Gegenwart eines Überschusses von unmarkiertem Clonidin ($1\text{ }\mu\text{M}$ Catapresan) bestimmt. Das lineare Bindungsverhalten von Clonidin war im Bereich von 250 bis $1000\text{ }\mu\text{g}$ Protein pro Inkubationsgemisch als positiv ermittelt worden (siehe auch 4.3.8.2.).

Abbildung 25

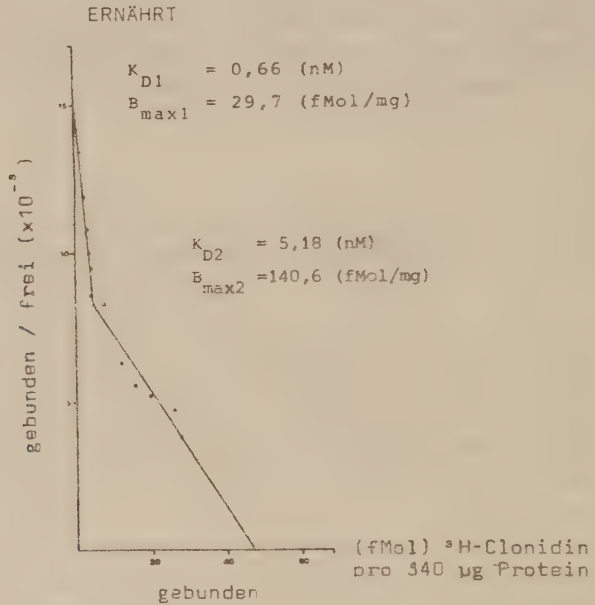


Abb. 25: Graphische Darstellung der Ergebnisse der Bindungsuntersuchung Nr. 1 (Tabelle 9) in Form eines Scatchard Plots. Hier: Bindung des noradrenergen Agonisten ^3H -Clonidin an Rezeptoren des medialen basalen Hypothalamus von ernährten Ratten. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von $1\text{ }\mu\text{M}$ unmarkiertem Clonidin ermittelt. K_D = Dissoziationskonstante, hohe Affinität, K_{D2} = niedrige Affinität. $B_{\max 1}$ und $B_{\max 2}$ = dazugehörige Kapazitäten.

Abbildung 26:

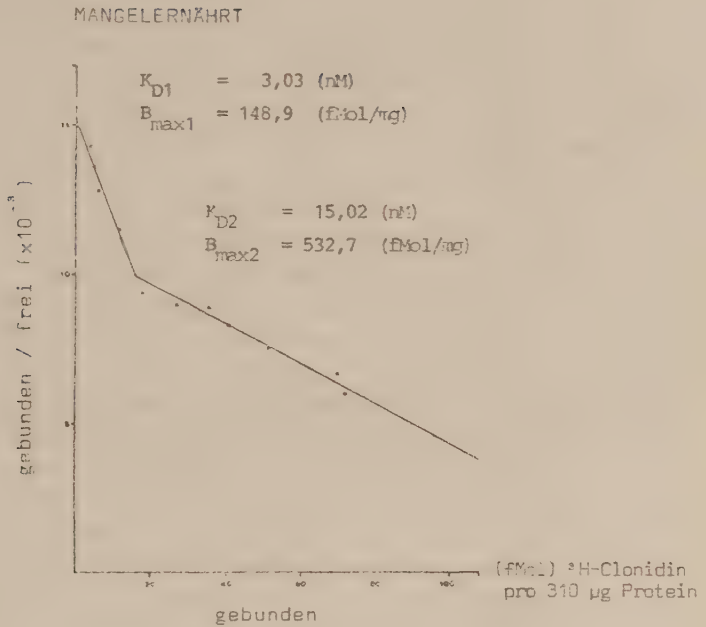


Abb. 26: Scatchard Plot. Hier zu Versuch Nr. 1 Tabelle 9: Bindung des noradrenergen Agonisten ^3H -Clonidin an Rezeptoren des medialen basalen Hypothalamus von mangelernährten Ratten. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von $1 \mu\text{M}$ unmarkiertem Clonidin ermittelt. K_{D1} und K_{D2} = Dissoziationskonstanten. $B_{\text{max}1}$ und $B_{\text{max}2}$ = Sättigungswerte.

Tabelle 10

³ H - CLONIDIN							
Versuch Nr.		Rezeptor-dichte (fMol/mg Protein)		Rezeptor - Affinität (nM)			
		B _{max 1}	B _{max 2}	K _{D1}	K _{D2}	r ₁	r ₂
ernährt	1	29,7	140,6	0,66	5,18	0,98	0,96
	2		214,7		5,38		0,98
	3		147,0		4,74		0,98
		29,7	$\bar{x}=167,2$	0,66	$\bar{x}=5,10$		
mangelernährt	1	148,9	532,7	3,03	15,02	0,98	0,98
	2		274,5		16,05		0,97
		148,9	$\bar{x}=436,0$	3,03	$\bar{x}=14,13$		

Tab. 10: Ergebnisse der Bindungsuntersuchungen des noradrenergen Agonisten ³H-Clonidin an Rezeptoren des medialen basalen Hypothalamus von ernährten und fünf Tagen mangelernährten Ratten. Die Messungen wurden über den Konzentrationsbereich von 0,27 bis 12,14 (nM) in Dreifachbestimmungen durchgeführt. Die unspezifische Bindung von ³H-Clonidin wurde in Gegenwart eines Überschusses von unmarkiertem Clonidin (1 µM) bestimmt. Die Versuche mit identischen Nummern wurden in Parallelansätzen durchgeführt. Beide Rezeptoraffinitäten, hoch und niedrig, waren in den mangelernährten Tieren signifikant erniedrigt. ($p < 0,001$), während die dazugehörigen Rezeptordichten jeweils signifikant erhöht waren ($p < 0,001$). r: Korrelationskoeffizienten der linearen Kurvenanpassungen der Scatchard Plots.

Die Abbildungen 25 und 26 zeigen die Scatchard Plots der Bindung von ³H-Clonidin an den medialen basalen Hypothalamus von Kontroll- und Hungertieren. In Tabelle 10 sind alle Ergebnisse, einschließlich der Korrelationskoeffizienten, angegeben. Die Ansätze Nr. 2 und Nr. 3 wurden im Konzentrationbereich von 0,50 bis 12,14 (nM) ³H-Clonidin pro Inkubation durchgeführt. In diesem Bereich wurde in den Kontroll- und in den Hungertieren jeweils eine Sorte von Rezeptoren gefunden, deren Dichte sich nach fünftägiger Aushungerung signifikant erhöhte und der Affinität sich signifikant erniedrigte. In Versuch 1 wurde zusätzlich der Bereich 0,27 bis 0,50 (nM) ³H-Clonidin pro Inkubation bearbeitet. In diesem niedrigen Konzentrationsbereich konnte

eine zusätzliche Schar von Rezeptoren nachgewiesen werden, deren Affinität bei den ernährten Kontrolltieren fast zehn mal so hoch und bei den Hungertieren circa fünf mal so hoch ist, wie die Affinität der Rezeptoren, die im hohen Konzentrationsbereich nachweisbar sind. Auch diese "high affinity"-Rezeptoren vergrößern nach fünf Tagen Mangelernährung ihre Dichte und vermindern ihre Affinität. Die Dissoziationskonstanten der ernährten und der mangelernährten Ratten aus Versuch 1 und Versuch 2 (und 3) sind signifikant verschieden ($p < 0,001$).

Die Mittelwerte aus allen durchgeführten Versuchen ergeben für die Rezeptorschar im niedrigen Konzentrationsbereich eine Vermehrung der Rezeptorzahl auf das fünffache (501,4%) und eine viereinhalbfache Verminderung der Affinität, (459,1%). Die Rezeptorschar im hohen Konzentrationsbereich war um das 2,6-fache (260,8%) in ihrer Kapazität (Dichte) vergrößert und in ihrer Affinität um das 2,7-fache (277,1%) vermindert.

2.3. Bestimmung der Konzentration von Glukose, Natrium, Kalium und Kalzium im Rattenserum nach fünf Tagen Nahrungskarrenz

In dieser Untersuchung wurde ermittelt, ob sich durch fünf-tägige Mangeler-nährung der Blutzuckerspiegel und die Konzentration der Ionen Natrium, Kalium und Kalzium verändern. Glukose wurde direkt aus Rattenvollblut nach der Hexokinase-Methode bestimmt (Testset Fa. Boehringer Mannheim). Die Ionenkonzentrationen wurden flammenphotometrisch ermittelt.

Die Bestimmungsmethoden sind unter 4.3.5. u.4.3.6. beschrieben.

Tabelle 11

			ernährt	Mangeler-nährt
Na ⁺	(mM/l)	n	39	40
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$	143,13 ($\pm 0,54$)	141,50 ($\pm 0,42$)
K ⁺	(mM/l)	n	39	40
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$	8,67 ($\pm 0,14$)	8,92 ($\pm 0,28$)
Ca ⁺⁺	(mM/l)	n	39	40
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$	2,68 ($\pm 0,02$)	2,50 ($\pm 0,01$)
Glukose	(µg/ml)	n	8	24
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$	1029 (± 39)	628 (± 30)
Gewicht	(g)	n	8	24
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$	270 ($\pm 3,2$)	184 ($\pm 2,6$)

Tab.11: Konzentration der Ionen Natrium, Kalium und Kalzium im Serum (mM/l) und des Blutzuckers Glukose (µg/ml) in ernährten und in fünf Tage mangelernährten Ratten.

Die Ionenkonzentrationen von Natrium, Kalium und Kalzium im Blut verändern sich im Verlauf von fünf Tagen Mangeler-nährung, abgesehen von der minimalen Verminderung von Ca⁺⁺ um -6,7%, nicht.

Die Glucosekonzentration im Blut vermindert sich dagegen um 39,0 %, entsprechend einer Gewichtsreduktion von 31,9 %.

3. Diskussion

3.a. Zusammenhänge zwischen Fortpflanzung und Ernährung

Die Evolution, die Höherentwicklung aller Organismen wird durch die natürliche Selektion gesteuert. Bei der Auslese der geeignetsten, Überlebensfähigsten Individuen spielt der Ernährungsstatus eine sehr wichtige Rolle. So sind z.B. Arten evolutiv im Vorteil, die in Zeiten des reichlichen Nahrungsangebotes fähig sind, die Energie in Form eines Fettpolsters zu speichern und so Zeitspannen ohne Nahrungsangebot schadlos zu überbrücken. Andererseits kann für Tiere und Menschen, die ihre Ernährung durch Jagen sichern, ein zu dickes Fettpolster hinderlich und von Nachteil sein. Vom Gesichtspunkt der Selektion her wäre es nicht richtig, pauschal von einem unter- oder übergewichtigen Tier oder Menschen zu sprechen, vielmehr sind jeweils diejenigen Proportionen von Muskel und Fett als "normal" anzusehen, die den jeweiligen Erfordernissen am besten gerecht werden und eine möglichst hohe Überlebens- und Reproduktionsrate zur Folge haben.

Als Beispiel sei hier die Fähigkeit verschiedener Tiere zum Winterschlaf angeführt. Murmeltiere, Eichhörnchen und Kaninchen z.B. erhöhen vor der saisonalen futterlosen Zeit drastisch die Nahrungsaufnahme. Dabei erhöht sich das Körpergewicht innerhalb von zehn bis fünfzehn Tagen auf teilweise 145 Prozent (Mrosovsky 1968). Während dieser Hyperphagie sind die Tiere bei der Auswahl der Nahrung sehr wählerisch. Eine Diät mit hohem Fettanteil bedingt eine stärkere Gewichtszunahme.

Die Fruchtbarkeit eines Individuums steht in direkter Abhängigkeit zu den verfügbaren Energie-Ressourcen. Beim Menschen ist der Kalorienbedarf während der Schwangerschaft um zwanzig und während des Stillens um neunzig Prozent erhöht. Auch bei den männlichen Individuen der meisten Arten besteht ein erhöhter Energiebedarf für die Spermatogenese und die Kämpfe um die erste Position (Platzhirsch, Leitwolf). Unterernährung

führt zu einer Reduktion der Fruchtbarkeit.

Die Wachstumsrate und die sexuelle Reifung erfahren eine Verzögerung bzw. totale Hemmung. Im mangelernährten Zustand ist im weiblichen Organismus die Ovulationsrate vermindert, im männlichen Organismus ist die Anzahl, Beweglichkeit und Lebensfähigkeit der Spermien reduziert. Tritt eine Unterernährung erst nach einer Befruchtung ein, so können Resorption des Fetus, Störungen beim Stillen oder früher Tod des Kindes wegen zu geringen Geburtsgewichtes die Folge sein (Gaulin und Konner 1977). Die Fortpflanzungserfolge sind in sehr empfindlicher Weise von dem Ernährungszustand der jeweiligen Individuen abhängig.

Der Mensch unterscheidet sich vom Tier durch die Weiterentwicklung des Gehirns, durch seine kognitiven Fähigkeiten. Eine Folge davon ist, daß die biologische Homöostasis nicht instinktiv wie bei einem Wurm reguliert wird, sondern vom Verstand beeinflußt bzw. überdeckt wird. In einigen pathologischen Zuständen kommen die physiologischen Rückkoppelungen nicht mehr zur Wirkung, so z.B. bei Anorexia nervosa oder bei Fettsucht (Cahill et al. 1979). Die willentliche Nahrungsverweigerung führt zu Unterernährung und eventuell zum Tod. Das Auftreten von Krankheiten wie Anorexia nervosa kann als der Preis gesehen werden, der für den Selektionsvorteil, den die Intellektualisierung des menschlichen Gehirns mit sich bringt, gezahlt werden muß.

In dieser Arbeit wurde die Auswirkung der Unterernährung auf die Fortpflanzungsfähigkeit an männlichen Ratten untersucht. Ein Nahrungsentzug von fünf Tagen ist dabei mit einer Gewichtsreduktion von mindestens 25 Prozent mit dem anorektischen Zustand eines menschlichen Patienten vergleichbar. (Pirke et al. 1979)

Die Fortpflanzung wird endokrinologisch durch die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse gesteuert. Veränderungen der einzelnen Stufen dieses Steuerkreises durch die Mangelernährung sind in dieser Arbeit untersucht worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in den folgenden Seiten diskutiert.

3.1. Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse bei der männlichen Ratte durch Mangelernährung

3.1.1. Veränderungen von Gonadenhormon und Gonadotropin

3.1.1.1. Veränderungen der Testosteron- und LH-Konzentrationen im Serum durch Nahrungskarrenz

Die Versuche 2.1.1.1. und 2.1.1.2.1. ergaben, daß bei männlichen adulten Wistarratten bereits nach einem Tag Nahrungsentzug der Testosteronspiegel im Serum auf circa ein fünftel (1,0 ng/ml) des Normalwertes (5,44 ng/ml) absinkt und sich im Verlauf von sieben Tagen nicht unter 1,0 ng/ml vermindert, während der Spiegel des luteinisierenden Hormons (LH) im Serum erst am zweiten Tag reduziert wird und am dritten Tag bis auf die untere Nachweisgrenze abgesunken ist. Am siebten Tag der Mangelernährung lag bei einer 34prozentigen Gewichtsreduktion praktisch kein LH und ein stark erniedrigter Testosteronspiegel vor.

Diese endokrinen Veränderungen sind eine Folge des reduzierten Ernährungszustandes und nicht, wie vielleicht vermutet werden könnte, eine "Stressantwort" des Körpers auf den Stressor Hunger, denn männliche Ratten reagieren auf z.B. visuelle oder thermale Stressoren genau mit einer gegenteiligen endokrinen Antwort: LH und Testosteron im Serum werden durch Stress erhöht (Siegel et al. 1981). Nach fünf Tagen Hungern waren Gewicht, Testosteron- und LH-Spiegel signifikant niedriger als in den ernährten Kontrolltieren ($p < 0,01$).

Die untere Nachweisgrenze von Testosteron liegt bei 0,015 ng/ml Serum. Die nach fünf Tagen Mangelernährung noch vorhandene Restmenge von 1,0 ng Testosteron/ml Serum stellt also eine noch sehr gut meßbare Menge dar. Es handelt sich hierbei zum Teil um das Produkt der Restaktivität der Gonaden und zum Teil um die Menge Testosteron, die aus der zweiten Testosteronquelle des Körpers, der Nebennierenrinde (Gandy et al.

1966) abgegeben wird. Diese zweite Möglichkeit der Androgenproduktion ist von der negativen feedback Wirkung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse nicht betroffen.

3.1.1.2. LH-Konzentration in der Hypophyse nach Mangelernährung

Im Versuch 2.1.1.2.2. wurde der LH-Gehalt der Hypophyse von Kontroll- und Hungertieren bestimmt. Es zeigte sich, daß bei einer 34prozentigen Gewichtsreduktion kein signifikanter Unterschied festzustellen ist, was mit entsprechenden Befunden von Howland et al. 1971 übereinstimmt. Das heißt, daß nach sieben Tagen Nahrungskarrenz die Adenohypophyse der Ratte noch sehr wohl fähig ist, das luteinisierende Hormon auszuschütten. Die Ausschüttung wird aber offensichtlich nicht mehr stimuliert.

3.1.2. Funktionelle Überprüfung der beteiligten endokrinen Drüsen

In den anschließenden Experimenten wurde untersucht, ob das Absinken der Testosteron- und LH-Konzentration im Serum eventuell auf eine Unterfunktion der beteiligten endokrinen Drüsen, der Adenohypophyse und der Gonaden, zurückzuführen ist.

Die sekretorische Tätigkeit der Hypophyse kann durch verschiedene Informationssignale aus dem Körper beeinflusst werden. So beschreiben Drouin und Labrie 1976, daß das Androgen Testosteron in Hypophysen-Zellkulturen inhibitorisch auf die LHRH-stimulierte LH-Ausschüttung wirkt. Vaughan et al. 1979 beschreiben bei in vivo Behandlung von männlichen Ratten mit dem Nonapeptid Arginin Vasotocin (AVT) eine Reduktion des LH-Spiegels im Plasma. Kortikosteron (Cohen und Mann 1981) und Insulin (Aashi et al. 1981) dagegen können eine Erhöhung der LHRH-stimulierten LH-Ausschüttung hervorrufen. Auch die Konzentration verschiedener Ionen scheint bei der LH-Ausschüttung aus der Adenohypophyse eine Rolle zu spielen. Kao et al. 1977 fanden an Rattenhypophysen in vitro, daß bei Zugabe von Kaliumchlorid

die LHRH-induzierte Freisetzung von LH erhöht wird. Die gleiche Wirkung wurde auch bei Zugabe von Kalzium festgestellt (Conn et al. 1979, Bourne et al. 1980). Conn und Rogers fanden 1980, daß der Influx von Kalzium-Ionen in die Zelle eine wesentliche Rolle spielt. Ein erhöhter intrazellulärer Kalziumspiegel stimuliert die Ausschüttung von LH. LHRH stimuliert den Ca^{++} -Influx. Bei Blockade der Kalziumkanäle (mit Methoxyverapamil) wird die Wirkung von LHRH inhibiert. Von Ferland et al. wird 1981 beschrieben, daß das Releasing Hormon LHRH selbst eine Verminderung der LHRH-Rezeptoren auf den Zelloberflächen des Hypophysenvorderlappens verursachen kann (down regulation). Neben diesen vielfältigen Einflüssen könnte auch das Fehlen des Releasing Hormons LHRH für den niedrigen LH-Spiegel im Serum der mangelernährten Ratte verantwortlich sein.

3.1.2.1. Überprüfung der Hypophysenfunktion

In Versuch 2.1.2.2.1. wurden daher die mangelernährten Ratten mit synthetischem LHRH i.v. substituiert. Die Ergebnisse zeigen, daß die unterernährten Tiere nicht nur auf supramaximale Dosen (500 ng/Tier), sondern auch auf sehr niedrige, submaximale Dosen (10 ng/kg) von synthetischen LHRH mit einer fast unverändert guten, dosisabhängigen LH-Antwort reagieren können. Die Hungertiere und die Kontrolltiere reagierten gleich empfindlich auf LHRH. Die halbmaximale Dosis ist in beiden Gruppen 28 ng/100 g Körpergewicht, obwohl das absolute LH-Maximum in den ernährten Tieren um einiges höher ausfällt. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Resultaten, die Root et al. 1973 und Campbell et al. 1977 bei Stimulations-tests mit LHRH bei unterernährten Tieren fanden.

Diese Beobachtungen zeigen, daß die Hypophyse der mangelernährten Ratte nicht nur LH im normalen Umfang synthetisiert, sondern auch fähig ist, auf einen LHRH-Stimulus zu reagieren. Demzufolge ist allein ein Mangel an LHRH schuld an der Verminderung der LH-Ausschüttung bei Mangelernährung. Keiner der an-

deren oben erwähnten, möglichen Einflüsse scheint hier eine wesentliche Rolle zu spielen. Auch die unter 4.3.6.ermittelte 6,7prozentige Verminderung der Kalziumkonzentration im Blut scheint keine Bedeutung zu haben.

3.1.2.2. Überprüfung der Gonadenfunktion

In den Versuchen 2.1.2.1.1. und 2.1.2.1.2. wurde die Funktionsfähigkeit der Gonaden nach fünftägiger Mangelernährung untersucht. Im normalen Kontrolltier löst ein erhöhter LH-Spiegel die Synthese und Ausschüttung von Testosteron aus den Leydig-Zellen aus. LH hat nach Huhtaniemi et al. 1981 kurzfristig einen positiven Einfluß auf die Kapazität (Anzahl) der testikulären LH-Rezeptoren. Die vermehrte LH-Bindung geht parallel mit einem Anstieg von cyclo-AMP und Testosteron. Bei einer länger anhaltenden hohen LH-Konzentration kommt es jedoch zu einer autoregulatorischen "down regulation" der LH-Rezeptoren.

Wie das luteinisierende Hormon (LH) ist auch das menschliche Chorion-Gonadotropin (hCG) ein Glykoprotein, das aus einer α - und einer β -Untereinheit besteht. Das Molekulargewicht ist 38000, davon sind 30 % Kohlehydratanteile (Bahl 1977). Die α -Untereinheit zeigt eine sehr große Homologie mit der LH- α -Untereinheit, während die β -Untereinheit hormonspezifisch ist. LH und hCG binden beide an die Leydig-Zellen und können die testikuläre Steroidogenese aktivieren (Catt et al. 1979). Catt und Dufau 1973 wiesen nach, daß hCG die LH-Rezeptoren besetzt, daß Kalzium-Ionen bei der Bindung keine Rolle spielen und daß die Zellen schon bei einer außerordentlich geringen Besetzung der Rezeptoren (0,25%) mit einer maximalen Testosteronproduktion reagieren können (Sparrezeptoren). Es liegt also im Normalfall ein großer Überschuß an spezifischen Rezeptoren vor. Catt und Dufau 1973 konnten ferner zeigen, daß die Kohlehydratanteile des hCG's eine entscheidende Rolle spielen: Wird von hCG die Sialinsäure (N-acetyl-Glucosamin) abgespalten, so geht die biologische Aktivität verloren, d.h. die Fähigkeit, die Testosteronsynthese zu stimulieren. Den gleichen Effekt hat

das Entfernen eines endständigen Galaktoserestes. Dieser Effekt läßt sich nur in vivo nachweisen. Das hCG kann auch nach Entfernen dieser Kohlehydratanteile noch an die Rezeptoren binden. Bahl 1977 beobachtete nach sequentiellm Entfernen von Monosacchariden aus dem Kohlehydratanteil von hCG zwar noch eine Bindung an die Rezeptoren, jedoch keine cAMP-Akkumulation mehr. Die offensichtlich wichtige Funktion von Kohlehydratresten bei der Interaktion zwischen dem Glykopeptid-Hormon und den Rezeptoren wird auch durch eine Arbeit von Lee et al. 1976 belegt: Die Bindung von radioaktiv markiertem hCG an Membranen von Rattentestes kann durch Ganglioside mit endständiger Sialinsäure inhibiert werden (Ganglioside sind Glykolipide = Ceramid + Oligosaccharid, die vorwiegend an der äußeren Oberfläche von Nervenzellen vorkommen). In Versuch 4.3.5. wurde ermittelt, daß nach fünftägigem Nahrungsmangel der Glukosespiegel im Blut um 39 Prozent vermindert ist. Dieser verminderte Zuckerspiegel könnte für eine zu geringe Glykosilierung des LH's und somit für eine reduzierte biologische Aktivität dieses Hormons verantwortlich sein.

Ferner sei hier noch angemerkt, daß die testikuläre Adenylatzyklase Magnesium-ATP als Substrat benützt und durch Guanin-Nukleotide aktiviert werden kann. Dabei bringt ein Protein, Guaninnukleotid-regulatorische Einheit (G/F) genannt, die Zykase in die aktive Form (Neer 1981). Auch für die Bildung von Nukleotiden (Nukleinsäure + Ribose) sind Zuckermoleküle nötig. So könnte der Blutzuckermangel nach fünf Tagen Unterernährung für eine Nicht-Aktivierung der Adenylatzyklase verantwortlich sein und auf diese Art eine Verminderung der Testosteron-Synthese zur Folge haben.

3.1.2.2.1. Reaktion der Testes auf die hCG-Stimulation

Um die Testes auf ihre Funktionsfähigkeit hin zu überprüfen, wurde in Versuch 2.1.2.1.1. die Fähigkeit zur Steroidproduktion mit hCG getestet. Die ernährten Kontrolltiere hatten einen Testosteronspiegel von 5,43 ng/ml, die mangelernährten Tiere dagegen nur noch 1,0 ng/ml. Durch dreitägige Applikation ei-

ner unphysiologisch hohen, supramaximalen Dosis von je 10 I.E. hCG s.c. konnte gezeigt werden, daß die Fähigkeit der Leydigzellen, Testosteron zu synthetisieren und auszuschütten, nach fünf Tagen Mangelerkennung noch voll erhalten ist, ja gegenüber den ernährten Tieren sogar ein mehr als doppelt so hoher Testosteronspiegel erreicht wird (Kontrolltiere: 26, 58 ng/ml, Hungertiere 68,38 ng/ml). Dieser überhöhte Testosteronspiegel in den Hungertieren könnte in der verminderten Stoffwechselrate begründet sein, die von Pirke et al. 1982 mit tritiiertem Testosteron in mangelerkennungten Ratten nachgewiesen wurde (Halbwertszeit Kontrolltiere 8,9 min, Hungertiere 12,4 min). Ferner könnten in den mangelerkennungten Tieren aufgrund des Fehlens des LH eine Unterstimulation der Testes vorliegen und infolgedessen eine erhöhte Empfindlichkeit gegen das hCG.

Parallele Ergebnisse wurden hierzu von Kretser et al. 1979 in kryptorchiden Rattentestes gefunden: In Ratten mit nicht deszendiertem Hoden ist der LH-Spiegel überhöht, nur noch 40 Prozent der testikulären LH-Rezeptoren sind vorhanden (getestet mit 125-Jod-hCG in vitro). Die Testes reagieren in vitro auf einen hohen hCG-Stimulus mit einer überhöhten Testosteronproduktion.

Auch LHRH kann über eine Beeinflussung der testikulären LHRH-Rezeptoren die Steroidbiosynthese in den Leydigzellen verändern: Dufau et al. 1979 fanden nach "down regulation" der LH-Rezeptoren mit LHRH auf weniger als 50 Prozent auf einen hCG-Stimulus hin eine verminderte Testosteron-Antwort und bei einem Rezeptorverlust, der kleiner als 50 Prozent war, eine vermehrte Testosteronproduktion. Daraus wird deutlich, daß nicht die absolute Anzahl der Rezeptoren für das Stimulationsmaß der Testosteronproduktion von wesentlicher Bedeutung sein kann, sondern eher das Vorhandensein weniger Rezeptoren mit bestimmten Qualitäten.

3.1.2.2.2. Kapillare Durchblutung der Testes nach Mangelernährung

Für die Funktionsfähigkeit der Testes spielt die kapillare Durchblutung dieser Drüsen eine nicht unwesentliche Rolle. In Versuch 2.1.2.1.2. wurde daher die kapillare Durchblutung der Testes von fünf Tagen mangelernährten Ratten untersucht.

Eik-Nes 1964 zeigt an Hunden, daß die Ausschüttung von Testosteron in die spermatischen Venen direkt abhängig ist von der Durchblutung der spermatischen Arterien: Bei einer Infusionsrate von arteriellem Blut, die kleiner als 0,76 ml/min war, sank die Fähigkeit des Testis zur Testosteronsekretion ab, wobei dieser Effekt durch Applikation von hCG, selbst in hohen Dosen, nicht beeinflußbar war. Die kapillare Durchblutung der testikulären Arterien spielt also für das Ausmaß der Testosteronsekretion in die venösen Gefäße eine bedeutende Rolle. Im Versuch wurde radioaktives Xenon in die Testes der Tiere gespritzt. Die Halbwertszeit des Xenonabtransportes aus den Testes wurde jeweils bestimmt und die Geschwindigkeit der testikulären Durchblutung mit Hilfe der Formel von Kety 1951 berechnet. Gleichzeitig wurde die kapilläre Durchblutung in ernährten und mangelernährten Ratten, die vorher drei Tage mit hCG behandelt worden waren, bestimmt. Normale Kontrolltiere hatten bei einer kapillären Durchblutung von 273 μ l/min/g einen Testosteronspiegel von 5,43 ng/ml Serum. Hungertiere hatten eine um ein drittel reduzierte Durchblutung (182 μ l/min/g) und einen Testosteronspiegel von 1,0 ng/ml. In den hCG-behandelten Kontrolltieren fand sich die gleiche Durchblutungsrate, wie in nicht hCG-behandelten Tieren, jedoch fand sich hier ein circa auf das fünffache erhöhter Testosteronspiegel. Auch bei den mangelernährten Tieren blieb die hCG-Behandlung ohne jeglichen Einfluß auf die kapilläre Durchblutung, während hier der Testosteronspiegel einen Wert erreichte, der über dem zehnfachen des Wertes der hCG-unbehandelten Kontrolltiere liegt. Die Höhe der kapillären testikulären Durchblutung war im Gegensatz zur Testosteronsekretion

durch hCG nicht beeinflussbar.

Die Ergebnisse der Durchblutungsmessung zeigen, daß die kapilläre Durchblutung der Testes nach fünf Tagen Mangeler-nährung um 33,3 Prozent vermindert ist. Daraus läßt sich fol-gern, daß nicht nur die Zufuhr von arteriellem Blut, sondern auch der Abtransport von Testosteron über die venösen Gefäße verlangsamt ist. Darney und Ewing 1981 konnten bei Testoste-ronzufuhr über die arteriellen Gefäße die Testosteronproduk-tion in den Testes von Ratten negativ beeinflussen und er-hielten einen verminderten Testosteronspiegel in der venösen Ausschüttung (short loop feed back). Durch die verminderte kapilläre Durchblutung in den unterernährten Ratten könnte es zu einer lokalen Erhöhung des Testosteronspiegels in der Mikro-umgebung der Leydigzellen und somit durch negative Rückkoppe-lung in den Testes selbst zu einer reduzierten Testosteronpro-duktion -und sekretion kommen.

Zur verminderten testikulären Durchblutung sei hier noch angemerkt, daß eine derartige Veränderung im Tierreich auch unter ganz normalen Umständen vorkommt, so bei Säugetieren, die sich saisonal fortpflanzen, wie z.B. Füchse. Bei diesen Tieren wurde von Joffre et al. 1973 während der Reproduktions-zeit eine maximale testikuläre Durchblutung gemessen und eine minimale während der inaktiven Zeit. Von diesen Autoren wird vermutet, daß die Durchblutung der Testes LH-sensitiv ist. Nicht nur während der fortpflanzungsinaktiven Zeit ist bei Tieren eine verminderte testikuläre Durchblutung beobachtet worden, sondern auch in alten Tieren: Pirke et al. 1979 fan-den bei alten Ratten eine mit einem verminderten LH-Spiegel korrelierte reduzierte testikuläre Durchblutung. Durch Appli-kation von hCG konnte hier nicht nur der Testosteronspiegel wieder auf normale Höhe gebracht werden, sondern auch die testikuläre Durchblutung. Bei den mangeler-nährten Ratten da-gegen konnte die Durchblutung mit hCG nicht beschleunigt wer-den. Das deutet darauf hin, daß die kapilläre Durchblutung der Testes nicht allein von einem aktivierenden Einfluß des LH's oder des hCG's abhängig ist, sondern zusätzlich auch von der Stoffwechsellage, d.h. dem energetischen Versorgungszu-

stand beeinflusst wird.

Die verminderte testikuläre Durchblutung wurde nach fünf Tagen Mangelerernährung beobachtet. Es ist daher schwer zu sagen, ob diese negative Komponente im Regelkreis der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse beim Absinken des Testosteronspiegels bereits nach einem Tag Nahrungsentzug eine Rolle spielt. Der Befund, daß bereits nach einem Tag Mangelerernährung nur mehr ein Resttestosteronspiegel von 1,0 ng/ml bei einem noch fast unverändert normal hohen LH-Spiegel vorhanden ist, könnte eventuell darin begründet sein, daß das gemessene LH zwar immunoreaktiv, jedoch nicht biologisch aktiv ist. Das heißt, daß z.B. notwendige endständige Zuckerreste am Glykoprotein LH bereits fehlen. Eine andere Möglichkeit wäre, daß in den Testes selbst auf die veränderte Stoffwechsellaage hin schnelle Veränderungen stattfinden.

3.1.3. LHRH-Konzentrationen in bestimmten hypothalamischen Nuclei nach Mangelerernährung

Es konnte gezeigt werden, daß die an der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse beteiligten endokrinen Drüsen nach fünf Tagen Nahrungsentzug im Prinzip noch voll funktionsfähig sind: Die Testes schütteten nach Stimulation mit hCG Testosteron aus und die Adenohypophyse zeigt einen normalen Gehalt an LH, der durch Stimulation mit synthetischer LHRH auch ausgeschüttet werden konnte. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die wesentlichen Veränderungen auf hypothalamischer Ebene stattfinden. Offensichtlich bleibt in der mangelerährten Ratte der stimulierende Einfluß von LHRH aus. Dies könnte vielleicht daran liegen, daß im Hungerzustand kein LHRH gebildet wird.

Um das aufzuklären, wurde in Versuch 2.1.3. der LHRH-Gehalt des Synthese-, Axonal- und Terminalbereiches der LHRH-Neuronen, d.h. der präoptischen Area, des basalen Hypothalamus und der medianen Eminenz nach fünf Tagen Mangelerernährung ermittelt. Es stellte sich heraus, daß sich der LHRH-Gehalt nach fünf Tagen Mangelerernährung, verglichen mit normalernährten Kontrolltieren, in der präoptischen Area nicht verändert,

im basalen Hypothalamus um 26,8 Prozent reduziert und in der medianen Eminenz auf über das doppelte ansteigt.

Parallel dazu wurden auch die LHRH-Mengen in diesen drei Bereichen bei k a s t r i e r t e n ernährten und mangeler-nährten Tieren bestimmt (siehe Tabelle 3). Hier zeigt sich für die präoptische Area ebenfalls keine Veränderung durch die Mangeler-nährung, jedoch ist die LHRH-Konzentration um 33 Prozent niedriger als in den unkastrierten Tieren. Im basalen Hypothalamus ist das LHRH in den kastrierten ernährten Tieren um 29,6 Prozent niedriger als in den unkastrierten ernährten und in den kastrierten mangeler-nährten auf 112,9 Prozent erhöht. In den kastrierten ernährten Tieren ergab sich für die mediane Eminenz ein LHRH-Anstieg auf 188 Prozent, in den kastrierten mangeler-nährten ein Anstieg auf 207 Prozent, jeweils wieder im Vergleich zur unkastrierten ernährten Gruppe.

Die hier gemessenen Werte für LHRH lassen keine sichere Aussage über das Ausmaß der Synthese, den Umsatz und die Ausschüttungsrate des Dekapeptides LHRH zu, da die LHRH-Konzentrationen, die zum Zeitpunkt der Dekapitierung in dem jeweiligen Hirnareal vorlagen, gemessen wurden. Die Ergebnisse bei den unkastrierten Tieren zeigen jedoch, daß in den mangeler-nährten Tieren auf keinen Fall weniger, im Bereich der medianen Eminenz sogar um über das doppelte mehr als in den Kontrolltieren an LHRH vorhanden ist.

Von Peck et al. 1979 wurde eine negative Rückkoppelungswirkung des Testosterons auf die LHRH-Neuronen beschrieben: Bei einem durch Kastration verminderten Testosteronspiegel befindet sich im Hypothalamus wegen vermehrter Ausschüttung w e n i g e r LHRH. Dies ist jedoch hier bei den mangeler-nährten Tieren, die wie gezeigt wurde, ebenfalls stark reduzierte Testosteronspiegel haben, nicht der Fall. Da trotz niedriger Testosteronspiegel die Konzentrationen von LHRH in den drei untersuchten Hirnarealen nicht absinken, muß gefolgert werden, daß das gebildete LHRH nicht ausgeschüttet wird und infolgedessen auch keine Stimulation der Adenohypophyse zur LH-Ausschüttung erfolgen kann.

In den kastrierten Parallelgruppen zeigt sich nun, daß in allen Hirnbereichen der ernährten Tiere, verglichen mit den unkastrierten, in der präoptischen Area und im medialen basalen Hypothalamus weniger und in der medianen Eminenz unwesentlich mehr LHRH vorhanden ist. Hier sind die Befunde von Peck et al. 1979 also bestätigt. Bei den kastrierten *mangelernährten* Tieren wiederum ist der gegenteilige Effekt noch viel deutlicher, das LHRH scheint sich in der medianen Eminenz noch in einem größeren Ausmaß anzustauen.

Die Abbildung 5 zeigt neben den LHRH-Werten in kastrierten Tieren auch die dazugehörigen Testosteron- und LH-Spiegel. Es ist zu ersehen, daß die kastrierten ernährten Tiere einen Resttestosteronspiegel von 0,66 ng/ml und die kastrierten mangelernährten von 0,73 ng/ml haben. Diese Androgenmengen stammen aus der Nebennierenrinde, da ja die Gonaden entfernt sind. Vergleicht man nun diese Restmengen mit der Testosteronmenge, die sich bei *nicht* kastrierten *mangelernährten* Tieren noch im Blut befindet (1,0 ng/ml), so ist zu erkennen, daß die gonadale Testosteronproduktion durch die Mangelernährung nicht hundertprozentig aufgehoben ist. Bringt man die Androgenproduktion der Nebennierenrinde in Abzug, so ergibt sich rein rechnerisch für die Testes der mangelernährten Ratte eine Testosteronausschüttung entsprechend einem Serumspiegel von 0,27 ng/ml.

Bei einem Absinken des Testosteronspiegels unter das Niveau von 1,0 ng/ml in den Hungertieren ist wieder eine LH-Ausschüttung zu verzeichnen gewesen: Der LH-Spiegel steigt dann, verglichen mit unkastrierten ernährten Tieren, auf circa das doppelte an (siehe Tabelle 3). Im Vergleich dazu steigt in den kastrierten ernährten Tieren der LH-Spiegel auf circa das fünffache an.

Aus diesen Ergebnissen deutete sich an, daß bei den Ratten nach fünftägiger Nahrungskarrenz die Bremse des Steuerkreises der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse in Form der negativen Rückkoppelung des Testosterons wegfallen kann. Jedoch scheint durch die Mangelernährung der Schwellenwert, ab

dem diese Bremse nicht mehr wirkt, nach unten verschoben zu sein.

3.1.4. Veränderungen der Feedback-Schwelle der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse durch Nahrungskarrenz

Zur Ermittlung des genaueren Schwellenwertes der steroidalen Rückkoppelung in ernährten und mangelernährten Tieren wurden in Versuch 2.1.3.2. folgende Untersuchungen durchgeführt: Kontrolltiere und Hungertiere wurden kastriert und in Anlehnung an Damassa et al. 1976 mit Testosteronkapseln verschiedener Länge implantiert, wodurch verschieden hohe, konstante Testosteronspiegel im Serum eingestellt wurden. Zu jedem Testosteronspiegel wurde die LHRH-Konzentration in der medianen Eminenz ermittelt und der LH-Spiegel im Serum bestimmt.

In Versuch 2.1.4.1. wurde vorweg festgestellt, mit welcher Länge von testosteronhaltigen Silikonkapseln jeweils in den ernährten und den mangelernährten Tieren welcher Testosteronspiegel im Serum erzielt wird. Aus Abbildung 9 wird hierzu deutlich, daß in den über fünf Tage ausgehungerten Tieren genau die halbe Kapsellänge ausreicht, um den gleichen Testosteronspiegel zu erreichen wie in den ernährten, wenn man den Testosteronanteil in Abzug bringt, der von der Nebennierenrinde beigesteuert wird. Diese Tatsache läßt sich durch einen langsameren Testosteronabbau in den unterernährten Ratten erklären. Pirke et al. 1982 konnten an Hand von tritiiertem Testosteron zeigen, daß die Halbwertszeit des Testosteron in fünf Tage ausgehungerten Ratten signifikant verlängert ist.

Abbildung 11 zeigt, mit welcher Kapsellänge in ernährten und mangelernährten Ratten welcher Testosteronspiegel, welche LHRE-Menge in der medianen Eminenz und welcher LH-Spiegel im Serum erreicht wurde. Es ist ersichtlich, daß erst unterhalb einer Testosteronkonzentration von 1,8 ng/ml die LHRH-Menge in der medianen Eminenz ansteigt und zwar in ernährten und mangelernährten Tieren gleichermaßen. Der LHRH-Anstieg bei einer Testosteronkonzentration kleiner als 1,8 ng/ml ist bei

den ernährten Kontrolltieren mit einer erhöhten LH-Ausschüttung korreliert. In den mangelernährten Ratten bleibt der LH-Spiegel bei dieser Testosteronkonzentration jedoch unter dem Nachweis-Niveau.

In den Hungertieren kommt es erst bei einem Absinken des Testosteronspiegels auf 0,73 ng/ml und einem stark überhöhten LHRH-Gehalt der medianen Eminenz zu einer LH-Ausschüttung. Der erreichte LH-Spiegel ist jedoch nur ungefähr halb so hoch wie der LH-Spiegel in ernährten Tieren mit gleich niedrigem Testosteron-Spiegel.

Die Ergebnisse aus Versuch 2.1.4.2. lassen darauf schließen, daß der Rückkoppelungsmechanismus von Testosteron im Zustand der **M a n g e l e r n ä h r u n g** bei verschiedenen Konzentrationen verschiedene Punkte des Systems ansteuert: Liegt ein Testosteronspiegel von 1,8 ng/ml und niedriger vor, so scheint die Inhibition der LHRH-Synthese aufgehoben zu sein. Die Ausschüttung aus der medianen Eminenz bleibt jedoch stark vermindert und somit auch die LH-Ausschüttung aus der Adenohypophyse. Erst bei einem Absinken des Testosterons auf 0,73 ng/ml wird eine LHRH- und nachfolgende LH-Ausschüttung möglich. Dieser nötige niedrige Testosteronspiegel lag jedoch ausschließlich in kastrierten Tieren vor, die nur mit Leerkapseln implantiert waren. In diesen Tieren war also nur nicht gonadales Androgen vorhanden.

Das kastrationsbedingte Absinken des LHRH-Gehaltes in der präoptischen Area und im basalen Hypothalamus in den ernährten Ratten (vergleiche Tabelle 3) wurde in gleicher Art von Root et al. 1975, Wheaton et al. 1976, Kalra et al. 1977 und Badger et al. 1978 beschrieben.

Es konnte gezeigt werden, daß in männlichen Ratten nach fünf Tagen Mangelernährung der Rückkoppelungsmechanismus der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse verändert ist. Im unterernährten Zustand hat eine wesentlich geringere Konzentration von Testosteron im Serum (1,0 ng/ml) noch eine inhibierende Wirkung auf die hypothalamische Ebene des Steuerkreises, sodaß das die LH-Ausschüttung stimulierende releasing Hormon LHRH nicht ausgeschüttet werden kann.

3.2 LHRH-Sekretion und Einfluß katecholaminerger Neuronen im Hungerzustand

Die Ergebnisse der bisher besprochenen Versuche zeigten, daß die Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse im Zustand der Mangelernährung hauptsächlich auf eine Störung auf hypothalamischer Ebene hinweist: Das LH-releasing Hormon wird aus der medianen Eminenz nicht ausgeschüttet. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, werden die LHRH-Neuronen von noradrenergen und dopaminergen Synapsen kontaktiert, über die eine Stimulation der LHRH-Ausschüttung durch die beiden Katecholamine ausgelöst werden kann. Hier sei noch einmal darauf hingewiesen, daß Dopamin neben seiner stimulierenden Wirkung auch einen inhibierenden Einfluß auf die LHRH-Ausschüttung haben kann (Sarkar und Fink 1981).

3.2.1. Veränderungen von Katecholaminspiegel -und Umsatz

Im Versuch 2.2.1.1. wurde der Spiegel und der Umsatz von Dopamin und Noradrenalin in der präoptischen Area, im basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz nach fünf Tagen Mangelernährung ermittelt. Zur Bestimmung des Katecholamin-Umsatzes (turn over) sind verschiedene Methoden beschrieben worden (Übersicht Müller et al. 1977). Neben der Umsatzbestimmung mit Hilfe von radioaktiv markierten Katecholaminen oder deren Vorstufen, stellt die Messung der Abnahme der Katecholaminmengen nach Hemmung der Synthese mit α -Methyl-para-Tyrosin eine nicht-radioaktive Methode dar. Das Ausmaß der Blockierbarkeit der Synthese ist ein indirektes Maß des Umsatzes. Diese Methode wurde hier angewandt. Die Dopamin- und Noradrenalinmenge der drei oben genannten Hirnareale wurde in Kontroll- und Hungertieren bestimmt, die zur Hälfte mit Kochsalzlösung und zur Hälfte mit α -Methyl-p-Tyrosin drei Stunden vor der Dekapitation behandelt worden waren. Die Differenz zwischen NaCl und α -MT-Werten wurde als ein Maß für den Transmitter-Umsatz (turn over) berechnet. Der Umsatz ist ein indirektes

Maß der neuronalen Aktivität.

Die Abbildungen 15 und 16 zeigen, daß in allen drei Hirnarealen sowohl der Spiegel als auch der Umsatz für beide Katecholamine nach fünf Tagen Mangelernährung signifikant vermindert ist. Der Noradrenalin Spiegel und Umsatz im Kortexbereich ist von dieser Veränderung nicht signifikant betroffen. Die Ergebnisse aus Versuch 2.2.1.2. zeigen, daß der Dopamin Spiegel im basalen Hypothalamus vom ersten bis zum vierten Tag der Nahrungskarrenz kontinuierlich abnimmt und sich am fünften Tag stabilisiert. Der Dopaminsatz vermindert sich nur bis zum zweiten Tag und bleibt dann gleich. Noradrenalin Spiegel -und umsatz verändern sich nach einem Tag Nahrungsentzug **n i c h t** signifikant, sinken dann am zweiten Tag signifikant ab und verändern sich in den weiteren Tagen der Mangelernährung kaum mehr. Dieses Absinken des Noradrenalin Spiegels -und umsatzes ist sehr gut korrelierbar mit der Abnahme des LH-Spiegels im Serum, die auch erst am zweiten Tag der Nahrungskarrenz erfolgt. Es könnte sein, daß ab dem zweiten Tag der Mangelernährung die noradrenerge neuronale Aktivität zu gering für eine Stimulation der LHRH-Ausschüttung ist.

Das Schema in Abbildung 12 zeigt die Entstehung von Noradrenalin aus den aromatischen Aminosäuren Tyrosin bzw. Phenylalanin. Die Mischfunktionelle Oxygenase Tyrosinhydroxylase katalysiert den Einbau eines Sauerstoffatoms aus O_2 in die Aminosäure Tyrosin, wodurch Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa) entsteht. Für diese Reaktion ist der Kofaktor Tetrahydrobiopterin als Elektronendonator nötig. Tetrahydrobiopterin entsteht aus Guanosin (Mandell et al. 1978).

$$L\text{-Tyrosin} + O_2 + \text{Tetrahydrobiopterin} \rightarrow L\text{-DOPA} + H_2O + \text{Dihydrobiopterin}$$

Das entstehende L-DOPA ist ein effektiver Inhibitor der Tyrosinhydroxylase (Endprodukthemmung). Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin wirken ebenso hemmend auf dieses Enzym. Das in den Versuchen zur Katecholamin-Umsatz-Bestimmung verwendete α -Methyl-p-Tyrosin ist ein kompetitiver Inhibitor der Tyrosinhydroxylase.

Aus Dopamin entsteht durch die katalytische Wirkung der Dopamin- β -Hydroxylase das Noradrenalin (siehe auch Abb. 13). Bei diesem Enzym handelt es sich um ein tetrameres kupferhaltiges Glykoprotein (Friedman et al. 1965). Die Bildung von Noradrenalin findet in den Speichergranula (Präsynaptische Vesikel) statt. Die Granula enthalten die Dopamin- β -Hydroxylase, das Noradrenalin und ATP. Alle drei Substanzen werden durch den Vorgang der Exocytose, bei der die Vesikelmembran mit der Zellmembran fusioniert, in den synaptischen Spalt ausgeschüttet (Moor 1979). Die Dopamin- β -Hydroxylase ist durch Fla 63 (Bis(4-methyl-1-homopiperazinyl-thiocarbonil) hemmbar. Cocchi et al. 1974 konnten durch Blockade nur der Noradrenalinsynthese durch Fla 63 einen kastrationsbedingten LH-Anstieg verhindern, was weiter darauf hindeutet, daß Dopamin bei der Ausschüttung von LH bzw. LHRH keine primäre Rolle spielt, da Fla 63 ja nur die Bildung von NE, nicht aber von Dopamin blockiert.

In den mangelernährten Tieren wurden verminderte Katecholaminspiegel und Umsatzraten gefunden. Dies könnte zum einen darauf beruhen, daß durch die Mangelernährung verminderte Substratkonzentrationen zur Verfügung stehen oder zum anderen darauf, daß die Aktivität der beteiligten Enzyme reduziert ist. Für die Entstehung von L-DOPA aus Tyrosin ist Sauerstoff nötig. Lovenberg et al. 1978 vermuten, daß in vivo die Sauerstoffversorgung im Gehirn ein begrenzender Faktor der Aktivität der Tyrosinhydroxylase sein könnte. Die Sauerstoffkonzentration im Hirngewebe ist ungefähr 0,01 mM.

Ferner könnte ein Mangel des Kofaktors Tetrahydrobiopterin vorliegen. Dieser Kofaktor entsteht aus Guanosin, das das Glykosid der Purinbase Guanin darstellt. In Versuch 4.3.5. wurde gezeigt, daß der Blutglukosespiegel nach fünf Tagen Mangelernährung um 31,9% vermindert ist. So könnte es sein, daß durch den reduzierten Glukose-pool zu wenig Guaninmoleküle glykosiliert werden, und infolgedessen ein Kofaktor-Mangel vorliegt.

Die Zellen der höheren Tiere sind auf die Aufnahme von Zuckermolekülen von außen angewiesen, da sie heterotroph sind.

Die Zuckermoleküle dienen zum einen als Bausteine, zum anderen als Energiequelle. Die in den organischen Molekülen gebundene Freie Energie wird über die Glykolyse und den Citratzyklus in Form der energiereichen Phosphatbindung im Adenosintriphosphat (ATP) konserviert, das im Tierkörper den ubiquitären Energieboten darstellt.

Bei Nahrungsentzug fällt bei den Versuchstieren die normale Kohlehydratquelle aus. "Bei Ratten, die 24 h ausgehungert wurden, sank der Glykogengehalt der Leber von 7% auf 1% ab (Lehninger 1975)". Der Organismus versucht nun, den Glykogenpool aus eigenen Beständen, d.h. aus dem Fett- und Proteinpool aufzufüllen. "Das tierische Gewebe ist jedoch nicht fähig, die Kohlenstoffatome von Fettsäuren zur Vermehrung des Glucosebestandes nutzbar zu machen: Fettsäuren werden zu Acetyl-Coenzym-A abgebaut, das im tierischen Gewebe nicht in Pyruvat oder Succinat übergeführt werden kann. In höheren Tieren gibt es keine Nettoproduktion neuer Glucose aus Acetyl-Co-A. Diese Möglichkeit ist allein Pflanzen und Mikroorganismen vorbehalten, die die Enzyme Isocitrat-Lyase und Malat-Synthetase des Glyoxalat-Cyclus haben. Höheren Tieren fehlen diese beiden Enzyme absolut" (Lehninger 1975).

Ein Auffüllen des Glucosepools aus dem Protein- bzw. Aminosäurepool dagegen ist über die Gluconeogenese möglich. Bis auf Leucin sind alle Aminosäuren glucoplastisch, die aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin sind gluco- und ketoplastisch (Ketoplastische Aminosäuren liefern beim Abbau Acetoacetat). Beim Abbau von Phenylalanin und Tyrosin entsteht die glucoplastische Fumarsäure. Es könnte durchaus sein, daß in den mangelernährten Ratten die Konzentration des Substrates Tyrosin aufgrund des Einsetzens der Gluconeogenese vermindert ist und infolgedessen niedrigere Mengen der Katecholamine gebildet werden.

Die gonadalen Steroide haben, wie bereits in der Einleitung beschrieben, eine negative feedback-Wirkung auf den Hypothalamus. Dabei scheint eine indirekte Inhibition der LHRH-Neuronen über eine negative Beeinflussung der katecholaminergen Aktivitäten durch Testosteron möglich zu sein. Testo-

steron hat einen inhibierenden Einfluß auf die Aktivität der Tyrosinhydroxylase, die den ersten Syntheseschritt beim Aufbau von Dopamin und Noradrenalin aus Tyrosin katalysiert (Kitzer et al. 1974). Bei hohem Testosteronspiegel wird also weniger Noradrenalin synthetisiert, die Stimulation der LHRH-Neuronen durch Noradrenalin fällt zu niedrig aus bzw. fehlt und infolgedessen wird kein LHRH und dementsprechend kein LH ausgeschüttet.

Fehlt dagegen die inhibierende Wirkung des Testosterons auf die Tyrosinhydroxylase, so wird vermehrt Noradrenalin synthetisiert. Dies ist z.B. nach Kastration von männlichen Ratten zu beobachten: Anton-Tay und Wurman 1968 beschreiben einen erhöhten Noradrenalin-turnover im Gehirn von kastrierten Ratten. Cocchi et al. 1974 konnten zeigen, daß sich der kastrationsbedingte LH-Anstieg mit dem selektiven Noradrenalin-syntheseblocker Flä 63 verhindern läßt. Simpkins, Kalra et al. 1980 beobachteten sowohl nach subcutaner als auch nach intrakranialer Implantation von Testosteron in kastrierte Ratten einen verminderten Noradrenalin-turnover im Vergleich mit den kastrierten Tieren. Die inhibierende Wirkung des Testosterons auf die Noradrenalinsynthese scheint lokal sehr eng begrenzt zu sein, denn sie wurde hier nur im medialen basalen Hypothalamus, nicht jedoch in der präoptischen Area festgestellt. Bei weiblichen Ratten wurde analog ein Noradrenalinanstieg im basalen Hypothalamus nach Ovariectomie und eine Verminderung des Noradrenalin-turnovers nach anschließender Injektion von Östradiol beobachtet (Advis, McCann et al. 1980).

Die Versuche 2.2.1.1. und 2.2.1.2. zeigten, daß sich durch fünftägige Mangelernährung die Spiegel und Umsatzraten der Katecholamine Dopamin und Noradrenalin in der präoptischen Area, im medialen basalen Hypothalamus und in der medianen Eminenz signifikant verminderten. Diese Veränderungen können für eine unzureichende Stimulation der LHRH-Neuronen und damit für eine Blockade der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse verantwortlich sein. Die Verhältnisse in den mangelerährten Tieren unterscheiden sich von denen in kastrierten

Tieren: In kastrierten wie in mangeler-nährten Ratten liegen erniedrigte Testosteronwerte vor, die in kastrierten Tieren eine unblockierte Katecholaminsynthese zulassen, in unterer-nährten Ratten wird die Synthese jedoch blockiert, da die Sensitivitätsschwelle gegen die gonadale feedback-Wirkung nach unten verschoben ist, wie im Versuch 2.1.4.2. gezeigt wurde.

Mit dieser verstärkten Empfindlichkeit gegen die negative Rückkoppelungswirkung des Testosterons gleicht die Funktionsweise der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse der unterer-nährten Ratte der Funktionsweise in einer präpubertären Ratte: Smith, Damassa et al. 1977 beobachteten in präpubertären Ratten eine empfindliche Sensitivität in adulten Tieren.

In Versuch 2.1.4.2. zur Ermittlung der Sensitivitätsschwelle in Hungertieren wurde gezeigt, daß bei entsprechend niedriger Testosteronkonzentration im Serum das luteinisierende Hormon trotz fünftägiger Mangeler-nährung ausgeschüttet wird. Dies war in kastrierten Tieren mit Leerkapselimplantation der Fall. Entsprechend den Beobachtungen von Simpkins, Kalra et al. 1980 zum Noradrenalinumsatz in kastrierten Tieren muß angenommen werden, daß auch in den Hungertieren bei niedrigem Testosteronspiegel der Noradrenalinumsatz erhöht wird und dadurch über eine erhöhte Stimulation der LHRH-Neuronen wieder eine LH-Ausschüttung möglich wird. Die Frage, ob in mangeler-nährten Ratten ein relativ geringerer Noradrenarger Stimulus die LHRH-Ausschüttung anregen kann, kann mit den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen nicht beantwortet werden. Wenn es der Fall wäre, würde es bedeuten, daß die Verminderung der Noradrenalinsynthese aufgrund eines zu kleinen Pools der Ausgangssubstanz Tyrosin bei diesem Abschaltmechanismus keine durchschlagende Rolle spielt.

Im ausgehungerten Zustand zeigt der Hypothalamus der Ratte also eine juvenile Sensitivität gegen die negative feedback-Wirkung des Testosterons. Überträgt man diese Befunde nun auf den anorektischen Menschen, so stellt die zum präpubertären Zustand verschobene Sensitivität des Hypothalamus das somatische Korrelat zu dem Wunsch dieser Patienten nach

geschlechtlicher Unreife dar. Die stimulierende Wirkung des Neurotransmitters Noradrenalin fehlt und infolgedessen bleibt die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse inaktiv.

3.2.1. Pharmakologische Beeinflussung der LHRH- bzw. LH-Sekretion

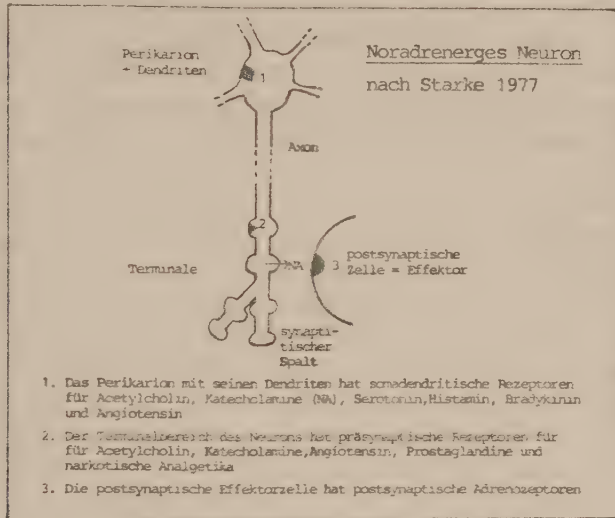
3.2.2.1. Wirkung von DOPA, DOPS und Clonidin auf die LH-Sekretion

Die Untersuchungen des Dopamin- und Noradrenalin-Umsatzes im Hypothalamus von fünf Tage mangelernährten Ratten hatten für beide Substanzen gezeigt, daß ihr Umsatz in den drei untersuchten hypothalamischen Bereichen signifikant vermindert ist. Ein verminderter Katecholaminumsatz könnte für die unzureichende Stimulation der LHRH-Neuronen verantwortlich sein. Wenn das der Fall wäre, sollte es möglich sein, durch die Zugabe der katecholaminergen Vorstufen DOPA und DOPS oder durch den alpha-noradrenergen Agonisten Clonidin diesen Mangel auszugleichen. Dies wurde in Versuch 2.2.2.1. durchgeführt. Eine Wirkung dieser Substanzen sollte eine LH-Ausschüttung in den Hungertieren auslösen.

Weder mit den Vorstufen DOPA und DOPS, noch mit dem Agonisten Clonidin konnte das luteinisierende Hormon in den Hungertieren zur Ausschüttung gebracht werden. Wie läßt sich die Unwirksamkeit dieser Substanzen erklären?

Wilkinson et al. 1981 konnten zeigen, daß Testosteron in adulten männlichen Ratten sowohl auf den Noradrenalin Spiegel und Umsatz als auch auf die Dichte der α -Adrenozeptoren des Hypothalamus einen Einfluß hat (Siehe auch Dufy et al. 1976). In Anlehnung daran wurde in Versuch 2.2.2.2. mit Hilfe von Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln in fünf Tage ausgehungerten Ratten ein normal hoher Testosteronspiegel eingestellt und anschließend an derartig vorbereiteten Tieren

nochmals die Substitutionswirkung von DOPA und DOPS untersucht. Die Ergebnisse in Tabelle 6 zeigen jedoch, daß auch bei einem normal hohen Testosteronspiegel eine Substitution mit den beiden Katecholaminvorstufen völlig wirkungslos bleibt. LH wird nicht aus der Hypophyse ausgeschüttet.



Die somadendritischen Rezeptoren kontrollieren die Bildung der Impulse, d.h. die elektrischen Signale, die das Axon entlanglaufen und im Terminalbereich des Neurons einen Calcium-Influx-abhängigen Transmitterausschüttung auslösen können.

Die präsynaptischen Rezeptoren kontrollieren die durch den elektrischen Impuls hervorgerufene Sekretion, d.h. das Ausmaß des chemischen Signals.

Eine Modulation der Transmittersekretion über die präsynaptischen Rezeptoren ist nur bei niederfrequenten elektrischen Impulsen möglich. Auch der Kalziuminflux spielt nur bei niedriger Impulsfrequenz eine wesentliche Rolle für den Exozytosevorgang, durch den die Transmittermoleküle aus den präsynaptischen Vesikeln in den synaptischen Spalt ausgeschüttet werden.

Dufy et al. zeigten 1976 an Kaninchen, daß die elektrische Aktivität hypothalamischer Neuronen durch Steroide moduliert werden kann: Zellen der medianen Eminenz wurden antidrom mit monophasischen Rechteckimpulsen stimuliert und die Entladungsfrequenz dazu gemessen. Durch Ovariectomie erhöht sich die Entladungsfrequenz von 2,2/sec auf 6,0/sec, nach anschließender Behandlung mit Östradiolbenzoat sinkt nach einem kurzzeitigen exzitatorischen Effekt die "firing rate" ab. In Anwesenheit des Steroids ist also die elektrische Aktivität der hypothalamischen Neuronen vermindert. Gleichzeitig wurde hier die Auswirkung des Östrogens auf die Reproduktionsachse untersucht: Nach Behandlung mit Östradiolbenzoat sinkt der LH-Spiegel auf 40% ab.

Dufy und Vincent (1980) beschreiben bei Behandlung einer Prolaktin-ausschüttenden Zelllinie mit 17 β -Östradiol Veränderungen der Ionenpermeabilität, die in Sekundenschnelle einsetzen: eine vorübergehende Depolarisation, gefolgt von einer Verminderung des Input-Widerstandes, die ein kurzes Aktionspotential hervorrief und anschließend eine Minute später ein Ansteigen des Input-Widerstandes, das zu einer anhaltenden Entladung eines Kalzium-abhängigen Aktionspotentials führte. Ein früher Effekt der Östrogenzugabe ist die intrazelluläre Akkumulation von Kalzium. Der Transmitter Dopamin wirkt in diesem Zellsystem inhibitorisch auf die Aktionspotentiale.

Ein Einfluß von Transmittern auf die neuronale elektrische Erregbarkeit wird auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben: Leung et al. 1981 fanden bei weiblichen ovariectomierten Ratten nach intraventrikulärer Infusion von Noradrenalin eine verminderte elektrische Aktivität der LHRH-haltigen Neuronen. Diese inhibitorische Wirkung von Noradrenalin wurde jedoch nur in den ovariectomierten Tieren, nicht jedoch in Östrogensubstituierten gefunden, sodaß die modulierende Wirkung des Noradrenalins auf elektrische Aktivität der Neuronen selbst wiederum einem modulierenden Einfluß der gonadalen Steroide unterworfen zu sein scheint.

Nakamura et al. 1981 untersuchten die noradrenergen Ter-

minalen im Rattenhirn auf ihre Erregungsfähigkeit durch einen elektrischen Stimulus und stellten fest, daß die Noradrenalinmenge, die auf einen elektrischen Stimulus hin oder auf Kalium-induzierte Depolarisation hin freigesetzt wird, durch Vorgänge an den präsynaptischen α -Rezeptoren moduliert wird. Der α -adrenerge Agonist Clonidin vermindert die Erregbarkeit der Terminalen und der α -Antagonist Phentolamin erhöht sie. Die elektrische Aktivität der katecholaminergen Neuronen scheint durch den eigenen Transmitter inhibiert zu werden, der ausgeschüttete Transmitter verursacht an den Terminalen eine Hyperpolarisation, sodaß diese Terminalen eine verminderte Erregungsfähigkeit gegenüber einem elektrischen Stimulus zeigen.

Im Versuch 2.2.2.1. wurden die ausgehungerten Ratten zum einen mit der Vorstufe L-DOPA (100 mg/kg i.p.) substituiert. Aus L-DOPA entsteht durch die Wirkung einer Dekarboxylase Dopamin, das direkt stimulierend auf dopaminerge Rezeptoren wirken kann oder aber auch in Noradrenalin weiter umgewandelt werden kann und eine Stimulation über noradrenerge Rezeptoren erfolgen kann. Die Unwirksamkeit der Substitution mit L-DOPA auf die LHRH-Neuronen könnte einerseits auf eine verminderte Aktivität bzw. Nicht-Induzierbarkeit der Dekarboxylase zurückführbar sein oder andererseits auf eine negative Rückkoppelungswirkung von Dopamin auf die dopaminergen Neuronen selbst, wie sie von Bunney et al. 1973 beobachtet wurde: L-DOPA senkte ebenso wie d-Amphetamin im Rattenhirn über eine Umwandlung in Dopamin und dessen Wirkung auf Dopaminrezeptoren die elektrische Aktivität von dopaminergen Neuronen.

Die Hungertiere wurden auch mit der Vorstufe Dihydroxyphenylserin behandelt, aus dem direkt Noradrenalin entstehen kann (200 mg DOPS/kg i.p.). Auch mit dieser Vorstufe konnte keine LH-Ausschüttung induziert werden. Hier könnte theoretisch wieder eine ungenügende Umwandlung der Vorstufe in den Transmitter vorliegen, aber auch eine negative feedback-Inhibition auf das noradrenerge Neuron über präsynaptische α -Rezeptoren, was vielfach beobachtet worden ist.

Svensson et al. 1975 stellten bei direkter Applikation von

niedrigen Dosen des Transmitters Noradrenalin, aber auch des α -noradrenergen Agonisten Clonidin in das Hirn von Ratten eine Inhibition der spontanen elektrischen Aktivität (firing) der noradrenergen Neuronen fest.

Bei verminderter elektrischer neuronaler Aktivität wird weniger oder kein Transmitter mehr ausgeschüttet.

Nach Langer 1973 sollte man besser vielleicht nicht von Transmitterausschüttung sondern von Transmitteroverflow sprechen, denn die Menge Noradrenalin, die "in vitro"-Systemen als ausgeschüttet gemessen wird, ist stets zu gering, da durch verschiedene Vorgänge die Nettomenge des Transmitters reduziert wird. Dies sind neuronaler und extraneuronaler uptake (Siehe auch Trendelenburg 1980) des Noradrenalins, Verminderung der Konzentration durch metabolisierende Enzyme wie Monoaminoxidase und Catechol-o-methyltransferase, sowie die Bindung an Rezeptoren.

Wenn dann das durch Stimulation freigesetzte Noradrenalin im synaptischen Spalt in seiner Konzentration einen gewissen Schwellenwert überschreitet, werden präsynaptische α -Rezeptoren aktiviert, die durch einen negativen Rückkoppelungsmechanismus eine weitere Ausschüttung des Transmitters verhindern. Noradrenalin und Dopamin sind in der Inhibition der Noradrenalinausschüttung equipotent (Langer 1973).

Clonidin wirkt als α -Agonist ebenso wie Noradrenalin inhibierend auf die Transmitterausschüttung. Jedoch ist diese Wirkung nur möglich, wenn Clonidin niedrig dosiert ist und die elektrische Stimulation des noradrenergen Neurons niederfrequent ist (Pulsdauer 2 msec, 12 mA, 5Hz) (Starke und Montel 1973). Bei hoher Frequenz (10Hz) wirkt Clonidin nicht mehr inhibierend.

1974 beobachteten Cubeddu et al. bei niederfrequenter Sti-

mulation von Katzenmilz eine gemeinsame Ausschüttung von Noradrenalin und Dopamin- β -hydroxylase und eine anschließende Verminderung des Noradrenalins im synaptischen Spalt durch reuptake. Dabei ist diese Wiederaufnahme des Transmitters offensichtlich nicht mit einer Speicherung der Amine gekoppelt, vielmehr wird das aufgenommene Noradrenalin durch das Enzym Monoaminoxidase in Dihydroxyphenyläthylenglykoll umgewandelt.

Svensson et al. 1975 konnten bei niedriger Dosierung von Clonidin (30 $\mu\text{g/kg}$ i.v.) im Rattenhirn eine Inhibition der spontanen firing rate beobachten, bei hoher Dosierung jedoch (100 - 1000 $\mu\text{g/kg}$ i.v.) wirkt Clonidin postsynaptisch α -agonistisch und überdeckt die präsynaptische Inhibition.

In Versuch 2.2.2.1. wurde den mangelernährten Ratten 150 $\mu\text{g/kg}$ Clonidin s.c. verabreicht, das als noradrenerger Agonist die Wirkung des fehlenden Noradrenalins substituieren sollte. Die Ergebnisse in Tabelle 4 zeigen, daß es nicht gelang, mit Clonidin eine LH-Ausschüttung auszulösen.

Eine Beantwortung der Frage nach der Ineffektivität der Substitution mit den Katecholamin-Vorstufen DOPA und DOPS sowie mit dem Agonisten Clonidin wurde unter 2.2.3. versucht. Die Diskussion dieser Versuchsergebnisse erfolgt weiter unten.

3.2.2.2. Wirkung von Prostaglandin E_2 auf die LH-Sekretion

An der hypophysären Gonadotropinsekretion ist auch Prostaglandin E_2 stimulierend beteiligt (Carlson und Kehl 1979). Es könnte angenommen werden, daß PGE_2 direkt auf die Hypophyse stimulierend einwirkt. Dies wurde jedoch von verschiedenen Arbeitsgruppen widerlegt: Drouin und Labrie 1976 konnten in vitro an primären Zellkulturen von Rattenhypophysen zeigen, daß es nicht möglich ist, mit Hilfe von PGE_2 aus diesen Zellen LH auszuschütten (Siehe auch Labrie et al. 1978). Chobsieng et al. 1975 zeigten mit in vivo-Versuchen, daß die LH-stimulierende Wirkung von PGE_2 nicht hypophysärer, sondern hypothalamischer Natur ist: bei vorheriger Verabreichung von LHRH-Antiserum gelingt es nicht mehr, mit PGE_2 das luteinisierende Hormon LH aus der Hypophyse auszuschütten. 1975 beschreiben Ojeda

et al. nach Injektion von PGE_2 direkt in den dritten Ventrikel von Ratten einen signifikanten Anstieg von LHRH und LH innerhalb von fünf Minuten. 1977 wiesen Ojeda et al. nach, daß PGE_2 seine stärkste Wirkung bezüglich der LH-Ausschüttung im Bereich der medianen Eminenz tätigt. PGE_2 -Implantationen, die mehr als 1 mm kaudal, dorsal oder lateral der Mittellinie der medianen Eminenz angebracht wurden, waren wirkungslos. Schließlich zeigten Ojeda et al. 1978, daß sich in der medianen Eminenz, verglichen mit dem Rest des basalen Hypothalamus, die größten endogenen Prostaglandinkonzentrationen befinden.

Die Wirkungsweise von Prostaglandin auf der hypothalamischen Ebene ist noch nicht genau bekannt. Verschiedene Beobachtungen wurden bisher gemacht: Bergström et al. 1973 präinkubierten Stücke von Rattenhirnen mit tritiiertem Noradrenalin und induzierten anschließend einen Noradrenalin-overflow durch elektrische Stimulation. Bei Zugabe von PGE_2 registrierten sie eine signifikante Reduktion des Noradrenalin-overflows und schreiben demzufolge dem Prostaglandin eine modulierende Wirkung bei der Katecholamin-Ausschüttung zu. Ojeda et al. 1979 inkubierten Teile des basalen Hypothalamus und medianen Eminenzen mit Noradrenalin und beobachteten neben einer erhöhten LHRH-Ausschüttung auch eine vermehrte Ausschüttung von Prostaglandin.

Für die Exozytose von Neurotransmittern ist ein vorheriger Kalzium-Influx notwendig (Übersichtsartikel Kelly et al. 1979). Prostaglandin hat aufgrund seiner Struktur (siehe Formel Abb. 19) auf Zellmembranen einen depolarisierenden Effekt. Dieser kann die Amplitude eines neuronalen Aktionspotentials reduzieren und das wiederum hat nach den Überlegungen von Hedquist 1973 einen verminderten Kalzium-Influx zur Folge und entsprechend eine verminderte Noradrenalin-ausschüttung. Die Kalzium-unabhängige, tyraminstimulierbare Noradrenalin-ausschüttung wird durch Prostaglandin nicht beeinflußt (Hedquist 1973).

Guillemin et al. 1977 stellten trotz Verabreichung von alpha- und beta-Blockern eine stimulatorische Wirkung von PGE_2 fest und schließen daraus, daß Prostaglandin direkt auf die

LHRH-Neuronen wirkt und nicht transsynaptisch.

In Versuch 2.2.2.3. wurde den Ratten nach drei und nach fünf Tagen Mangelernährung PGE_2 i.p. verabreicht und die Wirkung auf die Konzentration von LH und Testosteron im Serum untersucht. Die Ergebnisse in Tabelle 7 zeigen, daß es nach einer drei- und nach einer fünftägigen Aushungerung noch gelingt, mit Prostaglandin E_2 eine LH-Ausschüttung auszulösen.

In Versuch 2.2.2.4. wurde dann untersucht, ob Prostaglandin E_2 nach fünf Tagen Mangelernährung auch noch wirksam ist, wenn in den Tieren ein normal hoher Testosteronspiegel vorliegt. Der Testosteronspiegel im Serum wurde durch Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln in kastrierte Ratten auf einen konstanten "Normal"-Spiegel von 2,02 bzw. 2,41 ng/ml (siehe Tabelle 8) eingestellt. Die Ergebnisse zeigen, daß PGE_2 bei einer dem Normalspiegel entsprechenden Testosteronkonzentration, die durch die fünftägige Mangelernährung zum Stillstand gebrachte LH-Ausschüttung nicht wieder in Schwung bringen kann.

Das gonadale Steroid Testosteron scheint eine recht gewichtige Rolle bei der Steuerung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse zu spielen. Die Untersuchungen zur Feedback-Schwelle (2.1.4.) haben ergeben, daß das LH aus der Hypophyse trotz fünftägiger Mangelernährung ausgeschüttet werden kann, wenn der Testosteronspiegel unter 1,0 ng/ml Serum sinkt. Dies ist jedoch nur bei kastrierten Tieren der Fall. Mangelernährte unkastrierte Ratten haben einen Testosteronspiegel von durchschnittlich 1,0 ng/ml (Tabelle 1), bei dem keine LH-Ausschüttung mehr erfolgt. Wird jedoch, wie in Versuch 2.2.2.3. durchgeführt, PGE_2 zugeführt, so wird diese Testosteron-bedingte Blockade durchbrochen. Dieser PGE_2 -Effekt gelingt jedoch nicht mehr, wenn sich der Testosteronspiegel auf einem Normalniveau über 2,0 ng/ml befindet, wie Versuch 2.2.2.4. gezeigt hat.

Diese Tatsachen könnten darauf hindeuten, daß bei den durch den Mangelernährungszustand hervorgerufenen Veränderungen im Hypothalamus der prozentuale Anteil des Steroids Testosteron und der ungesättigten Fettsäure PGE_2 in den Membranen der LHRH- und/oder Noradrenalin-Neuronen von Bedeutung

sein kann. Eine Ausschüttung von LHRH, oder Noradrenalin, hängt nicht nur von der elektrischen Stimulation der Terminalen ab, sondern auch von der Beschaffenheit der Membran des Neurons. Bei einem Exozytosevorgang fusionieren die transmitterhaltigen Vesikel mit der Zellmembran. Bei diesem Fusionsvorgang sind die Ladungsverhältnisse und die Fluidität der Membran von wesentlicher Bedeutung (siehe Kelly 1979). Vom Anteil der ungesättigten Fettsäuren in der Membran hängt die Rigidität und die Permeabilität ab. Viele ungesättigte Fettsäuren brauchen mehr Platz, die Membran ist beweglicher (liquid crystal), mehr gesättigte Fettsäuren brauchen weniger Platz, die Membran ist stabiler (gel state) (Chapman 1975). Der liquid crystal-Zustand der Membran mit den gut beweglichen Lipidseitenketten wird nach Chapman 1975 durch einen hohen Anteil von Cholesterin positiv unterstützt. Dasselbe gilt vielleicht auch für Testosteron, das über Progesteron und Pregnenolon aus Cholesterin gebildet wird und bis auf die Seitenketten die gleiche Grundstruktur aufweist.

Andrews et al. 1981 beschreiben für weibliche Ratten bei Einsetzen der Pubertät eine verminderte Wirkung des negativen Östrogen-feedback's auf die Gonadotropin(LH)-Ausschüttung. Die hypothalamische Sensitivität für gonadale Steroide verändert sich mit Einsetzen der Pubertät.

Bei untergewichtigen Anorexie-Patientinnen und bei freiwillig hungernden Testpersonen reduziert sich die Funktionsweise der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse auf ein präpubertäres Niveau (Pirke et al. 1980, Pirke et al. 1982). Dies wurde anhand der Veränderungen des LH-Sekretionsmusters im Verlauf von 24 Stunden gezeigt. Bei den mangelernährten Ratten wurde ebenfalls eine verminderte LH-Ausschüttung ermittelt, sowie eine erhöhte Sensitivität des Hypothalamus gegen das gonadale Steroid Testosteron. Der endokrine Zustand der über fünf Tage ausgehungerten Ratten ist also, bezüglich der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse, mit einer präpubertären Steuerungsweise vergleichbar.

3.2.3 Veränderungen der α -Adrenozeptoren

In Versuch 2.2.2.1. wurde 150 $\mu\text{g/kg}$ Clonidin s.c. verabreicht. Die absolute Ineffektivität dieses α -Agonisten in bezug auf eine LH-Ausschüttung in den mangelernährten Tieren könnte eventuell daran liegen, daß die subcutan gespritzte Substanz sich in einer zu niedrigen Dosierung im Gehirn eingefunden hat. Clonidin kann jedoch leicht die Blut-Hirnschranke überwinden, da es wegen seiner Lipophilie sehr leicht membran-gängig ist. Eine andere und eventuell wahrscheinlichere Möglichkeit für die Ineffektivität des α -Agonisten Clonidin und damit auch für das aus den Vorstufen DOPA und DOPS gebildete Noradrenalin wäre eine Veränderung der noradrenergen Rezeptoren, sei es in der Kapazität oder/und in der Affinität.

Um dies abzuklären, wurden in Versuch 2.2.3. die Rezeptoren des basalen Hypothalamus mit radioaktiv markierten WB4101 und Clonidin auf ihre Kapazität und Affinität hin untersucht. Mit dem Agonisten Clonidin, der überwiegend an α_2 -Adrenozeptoren bindet, wurden in den ernährten Kontrolltieren zwei verschiedene Rezeptoren oder Rezeptorzustände markiert: einer mit einer hohen Affinität von $K_D = 0,66 \text{ nM}$ und einer niedrigen Kapazität von 29,7 f Molen/mg Protein und einer mit einer niedrigen Affinität von $K_D = 5,1 \text{ nM}$ und einer hohen Kapazität von 167,2 f Molen/mg Protein.

Die zwei gefundenen Affinitäten für die Clonidinrezeptoren sind gut vergleichbar mit den zwei verschiedenen Affinitäten, die Braunwalder et al. 1981 für Clonidin im Gehirn von Kälbern gefunden haben: eine Bindungsstelle mit niedriger Affinität mit $K_D = 5,4 \text{ nM}$ und eine mit hoher Affinität mit $K_D = 1,1 \text{ nM}$. Auch Greenberg et al. 1976 fanden für Clonidin im Rattenhirn eine Affinität von $K_D = 0,50 \text{ nM}$.

Im basalen Hypothalamus der über 5 Tage ausgehungerten Ratten zeigte sich für beide clonidin-markierte Rezeptoren eine erhöhte Kapazität und eine verminderte Affinität: Der Rezeptor 1 (hohe Affinität, niedrige Kapazität) ist in den Hungertieren mit einer fünffachen Rezeptoranzahl vertreten, deren

Affinität jedoch gegenüber den Kontrolltieren um das vier-
einhalbfache vermindert ist. Der Rezeptor 2 (niedrige Affi-
nität, hohe Kapazität) hat in den Hungertieren eine um das
2,6fach vermehrte Rezeptoranzahl, mit einer 2,7fachen Ver-
minderung der Affinität.

Die mit Clonidin als Marker für Adrenozeptoren gefunde-
nen Ergebnisse könnten folgendermaßen interpretiert werden:
Bei Rezeptor 1 könnte es sich um somadendritische Rezeptoren
handeln, sie haben eine hohe Affinität, sind aber nur in ge-
ringer Anzahl nachweisbar. Die niedrige Kapazität dürfte über-
wiegend darin begründet sein, daß sich wenige Zellkörper mit
ihren Dendriten in dem untersuchten Gewebe, dem basalen Hypo-
thalamus, befinden. Bei Rezeptor 2 dürfte es sich um prä-
synaptische Rezeptoren (α_2) im Terminalbereich der noradre-
nergen Neuronen handeln. Sie sind in einer hohen Kapazität von
durchschnittlich 167,2 fMolen pro mg Protein vorhanden. Dies
ist in guter Übereinstimmung mit der autoradiographischen Lo-
kalisation der α_2 -Rezeptoren von Young und Kuhar 1980: mit
einer ^3H -AminoClonidin-markierung wurden außerordentlich hohe
Dichten von α_2 -Rezeptoren im medialen Hypothalamus der Ratte
lichtmikroskopisch sichtbar gemacht.

Beide α_2 -Rezeptoren haben nach fünf Tagen Mangeler-nährung
eine verminderte Affinität. Interessanterweise ist die Kapazi-
tät dieser Rezeptoren genau um den Faktor erhöht, um den die
Affinität erniedrigt ist, sodaß der Schluß naheliegt, daß das
Neuron auf die Verminderung der Affinität mit einer Vermehrung
der Rezeptoren reagieren kann. Die Zelle versucht praktisch
auf diesem Wege einen Ausgleich zu schaffen.

Da jedoch, wie in Versuch 2.2.1.1. nachgewiesen, die Nor-
adrenalin-ausschüttung im basalen Hypothalamus der mangel-er-
nährten Tiere signifikant vermindert ist, muß angenommen wer-
den, daß die Vermehrung der α_2 -Rezeptoren und ihre Stimulation
durch Noradrenalin für die verminderte Transmitter-ausschüttung
verantwortlich ist: Durch Stimulation der Rezeptoren 1 (soma-
dendritisch) werden die elektrischen Impulse, die das Axon
entlanglaufen und die kalziumabhängige Transmitter-Ausschüt-

tung auslösen, reduziert, zu wenig elektrische Signale treffen im Terminalbereich ein. Durch Stimulation der Rezeptoren 2 (präsynaptisch) wird das elektrische Signal, das das Ausmaß der Ausschüttung reguliert, vermindert.

Über die α_2 -Rezeptoren erfolgt auch der reuptake des Noradrenalins. Da die Affinität vermindert ist, darf mit ziemlicher Sicherheit ein verlangsamtes Verschwinden des Transmitters aus dem synaptischen Spalt angenommen werden. Dadurch kommt es zu einer längeren Stimulation der präsynaptischen Rezeptoren und der dadurch bedingten Inhibition des Aktionspotentials und zu einer down regulation der Katecholaminsynthese durch Beeinflussung des Regulationsenzym Tyrosinhydroxylase.

Mit dem postsynaptischen alpha-noradrenergen Antagonisten WB 4101 wurde in den ernährten Kontrolltieren Rezeptoren mit folgenden Eigenschaften markiert: sie hatten eine Affinität von $K_D = 0,094$ nM und eine Rezeptordichte von 112,0 fMolen pro mg Protein im basalen Hypothalamus. Der α_1 -Rezeptor hat eine höhere Affinität als die beiden Clonidin-Rezeptoren, ist jedoch in diesem Hirnbereich in einer geringeren Dichte vertreten. Nach Young und Kuhar 1980 ist die größte Dichte der α_1 -Rezeptoren (markiert mit 3H -WB4101) im bulbus olfactorius zu finden, während sie im Hypothalamus nur in geringerer Dichte nachweisbar waren.

In den mangelernährten Ratten dagegen wurde für die α_1 -Rezeptoren eine niedrigere Affinität mit $K_D = 0,136$ nM gefunden. Hier blieb jedoch, im Gegensatz zu den α_2 -Rezeptoren die Rezeptordichte unverändert (113,2 fMol/mg Protein).

Die hier im basalen Hypothalamus ermittelte Affinität ($K_D = 0,096$) des WB4101-markierten Rezeptors ist dreimal höher als die Affinität, die U'Prichard et al. 1979 im Kortex der Ratte ermittelten ($K_D = 0,300$ nM), während die dazugehörige Dichte mit 11 pmoles/g Naßgewicht der hier ermittelten gleicht (Faustregel: Proteingehalt ist ca. 10% des Naßgewichtes: 110 fmoles/mg Protein).

Die Anzahl der postsynaptischen alpha-noradrenergen Rezeptoren scheint nicht variabel zu sein. Die verminderte Affi-

nität geht postsynaptisch nicht mit einer Erhöhung der Rezeptordichte parallel. Die postsynaptischen α_1 -Rezeptoren werden infolgedessen zu wenig stimuliert, keine oder unzureichende Aktionspotentiale entstehen und letztendlich erfolgt keine Stimulation der LHRH-Ausschüttung. Die Weiterleitung des elektrischen Signals, das seinen Ursprung im noradrenergen Neuron hat, wird an der chemischen Überbrückungsstelle, der Synapse, gebremst, auf dem nachgeschalteten Neuron läuft kein Aktionspotential weiter. Der Mechanismus dieser Bremse ist die verminderte Affinität des postsynaptischen alpha-noradrenergen Transmitter-Rezeptors, die im basalen Hypothalamus der über fünf Tage mangelerährten Ratte auftritt. Die verminderte Tätigkeit der Hypophysen-Hypothalamus-Gonaden-Achse bei Mangelernährung ist so durch eine ungenügende Stimulation der LHRH sezernierenden Neuronen erklärbar.

Durch die verminderte Affinität der α_1 -Rezeptoren wird auch verständlich, warum die Substitutionsversuche mit L-DOPA, DOPS und Clonidin nicht wirksam waren. Diese Substanzen sollten direkt bzw. indirekt einen Transmittermangel ausgleichen. Sie können jedoch nicht wirken, da die Affinität der Zielrezeptoren sich signifikant vermindert hat. Im Zustand der Mangelernährung befindet sich aufgrund des verminderten reuptakes eine erhöhte Transmitterkonzentration im synaptischen Spalt, sodaß die Vermutung naheliegt, daß bei Gabe der Noradrenalin-Vorstufen bzw. des α -Agonisten Clonidin die Inhibition über die präsynaptischen alpha-Rezeptoren nur noch verstärkt wird. Die Verminderung des LH-Spiegels bei den in Versuch 2.2.2.1. mit DOPS behandelten, ernährten Kontrolltieren auf 5,4 ng/ml Serum (NaCl-Kontrolle 18,8 ng/ml) spricht für die Wirksamkeit eines derartigen Mechanismus.

Die Affinitäten der beiden Clonidinbindungsstellen und die Affinität des WB4101-Rezeptors des medialen basalen Hypothalamus sind nach fünf Tagen Mangelernährung signifikant vermindert. Über die Ursache dieser Affinitätsveränderungen kann hier keine konkrete Aussage gemacht werden. Es könnte sich eventuell um Konformationsveränderungen des Adrenozeptorkomplexes handeln oder auch um Veränderungen der Membranpotentia-

le in der Mikroumgebung der Rezeptoren, wodurch eine Bindung des Transmitters bzw. des Agonisten Clonidin und des Antagonisten WB4101 erschwert wird. Von Glossmann und Hornung 1980 wurde eine Veränderung der Affinität von alpha-Adrenozeptoren des Rattenhirns durch Natrium-Ionen beschrieben. Michel et al. 1980 berichten von einer Verminderung der Affinität für alpha-adrenerge Agonisten in Kaninchen-Blutplättchen durch die Wirkung von Natrium-Ionen und Guaninnukleotide. Auch U'Prichard und Snyder 1978 beobachteten bei Membranen von Kälberhirn einen Einfluß von Guanylnukleotiden auf alpha-noradrenerge Rezeptoren.

1980 berichten U'Prichard und Snyder für die Regulation der Bindung von Agonisten (Clonidin) an α_2 -Adrenozeptoren von einer Interaktion zwischen divalenten Kationen und Guaninnukleotiden. Bei Abwesenheit von divalenten Kationen vermindert GTP die Bindung von agonistischen Liganden. In Anwesenheit von Kalzium-, Magnesium- oder Manganionen dagegen wirkt GTP in entgegengesetzter Weise, so daß es zu einer erhöhten Agonistenbindung kommt. Die Affinitätsveränderungen der Adrenozeptoren könnten dementsprechend von Verschiebungen der Nukleotid- und Ionenkonzentrationen herrühren.

Die Affinität sowohl der Clonidin-Bindungsstellen als auch der WB4101-Bindungsstellen wird durch die Mangelerkrankung vermindert, während sich die Dichte der Clonidin-Rezeptoren erhöht. Diese Veränderungen könnten auch auf die erhöhte Sensitivität des Testosteron Feedback's zurückzuführen sein. Diese Hypothese findet ihre Begründung in den Ergebnissen von Wilkinson et al. 1979, die einen Einfluß der gonadalen Steroide auf die Anzahl und die Affinität der hypothalamischen α - und β -adrenergen Rezeptoren von weiblichen Ratten belegen. Analoge Wirkungsweisen dürften auch in den männlichen Ratten vorhanden sein.

3.3. Konzentration von Glukose, Natrium, Kalium und
Kalzium im Serum nach fünf Tagen Nahrungskarrenz

In Versuch 2.4. wurde die Konzentration von Glukose im Blut von Ratten nach fünf Tagen Nahrungsentzug ermittelt. Der Blutzuckerspiegel war bei einer Gewichtsreduktion von 31,9 Prozent auf 61 Prozent abgesunken. Die möglichen Auswirkungen des verminderten Glukosepools auf die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse wurde an verschiedenen Stellen bereits diskutiert.

Die Natrium-, Kalium- und Kalzium-Konzentration im Serum dagegen waren nach fünftägiger Mangelerernährung nicht verändert. Ein Ionenmangel liegt also nach diesem Zeitraum des Hungerns nicht vor.

4. Material und Methoden

4.1. Versuchstiere

Art, Geschlecht, Alter: Verwendet wurden männliche Wistar-Ratten. Sie waren bei Versuchsstart circa 10 Wochen alt und hatten ein Ausgangsgewicht von 200 bis 220 g.

Herkunft: Die Tiere für Versuch 2.1. wurden vom Zentral-Institut für Versuchstiere, Lettow-Vorbeck-Allee 57, 3000 Hannover 91 bezogen. Dieses Institut ist eine Hilfseinrichtung der Forschung, getragen von der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Die Tiere stammen aus permanent monogamer Verpaarung. (Jahresbericht 1979 des Zentralinstitutes für Versuchstiere). Die Tiere für die Versuche 2.2., 2.3. und 2.4. wurden von der Spezial-Versuchstierzucht Mus Rattus GmbH, Hofoldingenstr., 8011 Brunnthal bezogen. Der Lieferant mußte aus Kostengründen gewechselt werden.

Haltung, Ernährung: Die Anlieferung der Tiere aus Hannover nach München nahm mit der Bahnpost einen Tag in Anspruch. Die Tiere waren während der Reise mit Trockenfutter, nicht jedoch mit Wasser versorgt. Die Ratten wurden vor Versuchsbeginn zur Erholung einen Tag bei voller Versorgung gehalten. Im Tierstall des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie Kraepelinstr. 10, 8000 München 40 wurden sie nach ihrer Ankunft randomisiert (zufallsverteilt) zu je 6 Stück in Plastik Käfige (Makrolon) mit den Maßen 42x28x16 cm verteilt. Die Kontrolltiere erhielten als Vollnahrung Altromin^R Rattenfutter und Wasser ad libitum, während die Hungergruppen ausschließlich Wasser ad libitum zur Verfügung hatten. Die Ratten waren einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 14 Stunden Licht und 10 Stunden dunkel ausgesetzt. Über die Luftfeuchtigkeit kann keine Angabe gemacht werden. Während der ganzen Versuchszeit ist bei keinem der Tiere eine Krankheit aufgetreten.

Genehmigung: Die Durchführung der Tierversuche unter der Leitung von Dr.med.habil.K.M. Pirke wurde von der Regierung von Oberbayern, Sachgebiet 211, Postfach 8000 München, genehmigt (Aktenzeichen 211-5319a 51/81). Die Versuchstierhaltung und die Durchführung der Tierversuche erfolgte entsprechend den Bestimmungen des §§ 8 und 9 TierSchG. Die Versuche und die Anzahl der verwendeten Tiere wurden monatlich gemeldet.

4.2. Manipulationen an den Tieren

Die Markierung der Tiere in einem Kasten erfolgte durch Einzwicken von Metallmarken in das äußere Ohr oder durch farbige Markierung am Schwanz.

Die Ratten erhielten verschiedene Pharmaka per injectionem. Ferner wurden Kastrationen mit nachfolgenden Implantationen von testosteronhaltigen Silikonkapseln durchgeführt.

4.2.1. Injektionen

Die Injektionen erfolgten unter die Haut (subcutan s.c.), in die Bauchhöhle (intraperitoneal i.p.) oder in die Schwanzvenen (intravenös i.v.). Die vier Schwanzvenen der Ratte sind am körpernahen Bereich nach Abrasieren des Felles gut sichtbar. Die Adern sind meist sehr dünn. Sie wurden durch Aufkloofen von Xylol und Stauen vom Schwanzende her etwas zum Anschwellen gebracht. Für die i.v. Injektionen wurden Kanülen Nr. 20 verwendet.

4.2.2. Operationen

Alle Operationen wurden entsprechend dem Tierschutzgesetz erst nach vorhergehender Betäubung durchgeführt. Die Tiere wurden im wesentlichen bei sämtlichen Operationen mit Äther narkotisiert und während des ganzen Einriffes unter Narkose gehalten. Allein für die Bestimmung der testikulären Durchblutung mit ¹³³Xenon (Versuch 2.1.2.1.2.) waren die Ratten mit dem Narkosemittel Ketanest (100 mg/kg Körpergewicht i.p.) betäubt worden.

4.2.2.1. Kastrationen

Die Kastrationen wurden in Anlehnung an die übliche Methode der Humanmedizin durchgeführt. Die Ratten wurden unter Äthernarkose gehalten. Im Hodenbereich wurde mit einem Tierrasierer das Fell abrasiert und der Operationsbereich mit Alkohol desinfiziert. Die beiden Testes wurden einzeln entnommen, d.h.

das Skrotum wurde nacheinander an beiden Seiten mit einem Skalpell mit einem ca. 2 cm langen Schnitt geöffnet. Der Testis, der bei der Ratte bis auf Bauchhöhe zurückgezogen sein kann, wurde mit Epididymis und anhängendem Fettgewebe nach außen befördert. Nach dem Abklemmen wurden sämtliche Adern und Kanäle mit einer umfassenden Doppelnaht abgebunden und anschließend der Testis mit o.a. Anhängen abgeschnitten. Der Schnitt im Skrotum wurde mit zwei Nähten wieder verschlossen. Als Nahtmaterial wurde Cat Gut verwendet. Der Operationsbereich wurde abschließend mit Jodtinktur bestrichen und mit Sprühpflaster abgedeckt. Bei keiner der durchgeführten Kastrationen trat eine Entzündung auf. Tiere mit fehlenden oder zu kleinen Testes wurden von vornherein aus den Versuchen ausgeschlossen.

4.2.2.2. Implantation von Silikonkapseln

Zur Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln mit der Länge von 0,7 bis 2,0 cm wurde am Rücken der Ratten auf Schulterhöhe das Fell abrasiert und die Stelle mit Alkohol desinfiziert. Mit einem Skalpell wurde die Haut ca. 1 cm lang aufgeschnitten und unter der Haut mit einer Klemmschere eine Höhlung aufgeweitet, in die die Kapsel eingeschoben wurde. Die Wunde wurde mit einer Naht aus Cat Gut verschlossen, mit Jodtinktur bestrichen und mit Sprühverband abgedeckt. Nach Beendigung der Versuche wurden die Kapseln wieder entnommen und die Implantationsstelle auf Entzündung untersucht. Es wurden in keinem der Fälle Vereiterungen festgestellt.

4.2.3. Entnahme von Blut und Gehirnteilen

Zur Entnahme von Blut und Gehirn wurden die Ratten wie folgt getötet. Die Tiere wurde erst durch einen Schlag auf den Schädel betäubt und anschließend mit einer Rattenguillotine dekapitiert. Das Töten der Tiere muß innerhalb von Sekunden von statten gehen, da sich ansonsten stress-abhängige, schnelle Veränderungen in den Hormonkonzentrationen einstellen können. Der Rumpf wurde über einem Glastrichter in ein Reagensglas ent-

blutet. Das Blut wurde 3 bis 4 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt und anschließend das Serum mit ca 800 g (3500rpm) abzentrifugiert. Die Seren wurden bei -20°C bis zur Durchführung der verschiedenen Bestimmungen aufbewahrt.

Zur Entnahme des Gehirns wurde das Fell vom Schädel entfernt, die Schädeldecke mit einer kräftigen kleinen Schere mit zwei lateralen Längsschnitten abgehoben. Das Gehirn wurde vorsichtig herausgekippt, wobei die Nervi optici mit einer feinen Pinzette abgetrennt wurden. Bei diesem Vorgehen bleiben die Bulbi olfactorii, sowie die Hypophyse in der Schädelkalotte zurück. Für Versuch2.1.1.2.2. wurden die Hypophysen entnommen, in Aluminiumfolie auf Trockeneis eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C aufbewahrt. Die Gewinnung der medianen Eminenzen erfolgte direkt vom frisch entnommenen Gehirn. Dieses wurde in einer isotonischen Kochsalzlösung liegend in einer Petrischale mit einigen Objektträgern fixiert und die mediane Eminenz mit einer "Iris"-Schere, wie sie im Humanbereich für Augenoperationen verwendet wird, unter einem Stereomikroskop abgeschnitten. Die Schnittführung erfolgte nach der Beschreibung von Negro-Vilar 1979 derart, daß der Nucleus arcuatus nicht enthalten ist.

Zur Gewinnung der präoptischen Area und des medialen basalen Hypothalamus wurde die Gehirne mit der Oberseite nach unten in Aluminiumfolie auf Trockeneis eingefroren. Dabei wurde darauf geachtet, daß das Gehirn seine natürliche Form beibehielt. Die Areale wurden entweder als rechteckige Würfel mit der Kantenlänge 4x4x4 mm oder als Zylinder mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Tiefe von 2 mm entnommen. Die präoptische Area wurde genau vor dem Chiasma opticum herausgeschnitten, der basale Hypothalamus genau hinter dem Chiasma opticum, seitlich begrenzt von den lateralen Sulci. Zum Herausschneiden der rechteckigen Stücke aus dem gefrorenen Hirn wurde ein Skalpell benützt, zum Herausstanzen der Zylinder eine Metallkanüle mit Innendurchmesser 4 mm (Aderlaßkanüle für den Veterinärbedarf), deren schräge Spitze plan abgeschliffen wurde. Die Arbeiten mit den gefrorenen Gehirnen wurden im Kühlraum (4°C) durchgeführt.

4.3. Bestimmungen

4.3.1. Quantitative Bestimmung von Testosteron

Die Testosteronbestimmungen wurden radioimmunologisch nach Pirke 1973 durchgeführt. Die Testosteronkonzentration im Ratten-serum wurde wie folgt ermittelt:

- 100 μ l Rattenserum
- + 400 μ l H_2O dest.
- + 5,0 ml Äther zur Extraktion des Testosterons
- 10 min schütteln, 5min zentrifugieren zur Phasentrennung
- 2,0 ml aus der Ätherphase in ein Rggl.
Durch Überleiten von Stickstoff im 20°C Wasserbad
bis zur Trockene einengen
- + 50 μ l 3H -Testosteron in 0,076 M Phosphatpuffer pH 7,4
mit 0,1% Rinder- γ -Globulin (Fa. CalBiochem)
- + 500 μ l Testosteron-Antiserum (von Pirke in Kaninchen
hergestellt (Pirke 1973))
- 10 min schütteln, über Nacht bei 4°C stehenlassen
- + 100 μ l Dextran-Aktivkohle-Suspension (25mg+250mg/100ml) zur
Trennung der Antikörpergebundenen und der freien
Liganden. Freies Testosteron wird an die Aktivkohle
gebunden.
- 10 min schütteln im Kühlraum, 10 min bei 2900g, 4°C zen-
trifugieren.
- 500 μ l aus dem Überstand, der den Antigen-Antikörperkomplex
enthält, in ein Zählgefäß pipettieren.
- + 10 ml Szintillator (7g PPO und 100g Naphtalin in 1 l Dioxan)

Die Radioaktivität wurde in einem Tri-Carb-Szintillations-Spektrometer (Fa. Packard) gemessen.

Prinzip: Das 3H -Testosteron bindet sich an die Antikörper und wird von den unmarkierten Testosteronmolekülen der Serumprobe von den Bindungsstellen verdrängt. Die Reaktion befindet sich zum Zeitpunkt der Messung im Gleichgewicht. Das Maß der Verdrängung des 3H -Testosterons vom Antikörper spiegelt die Konzentration des Testosterons in der Serumprobe wieder. Die Berechnung der Werte erfolgt mit Hilfe einer Standardkurve, im Bereich von 25 bis 500 pg Testosteron (Fa. Merck). Die Eichwerte wurden durch die Logit-log-Transformation linearisiert und die Meßwerte aus der Eichkurve abgelesen.

Alle Bestimmungen wurden unter statistischer Qualitätskontrolle mittels einer Rattenserum-Kontrollprobe durchgeführt. Der Variationskoeffizient zwischen den Ansätzen (interassay) war 5,8 % bei einer mittleren Testosteronkonzentration von 2,43 μ g/l.

4.3.2. Quantitative Bestimmung von LH

Die Bestimmung von LH aus dem Serum und aus der Hypophyse erfolgte mit der doppelten Antikörpermethode nach den Empfehlungen des Pituitary Hormone Distribution Program der Pituitary Agency of the National Institute of Health (NIH) wie von Pirke et al. 1979 beschrieben. Serumproben wurden direkt eingesetzt. Hypophysen wurden in 1,0 ml isotonischen Phosphatpuffer pH 7,2 mit einem Glas-Glas-Potter homogenisiert und mit Puffer 1:200 verdünnt.

200 μ l Probe
+500 μ l Anti-Ratten-LH-Antiserum (= 1. Antikörper) mit 0,5% NRS (=normal rabbit serum) in 0,01 M Phosphatpuffer pH 7,4, 0,05 M EDTA und 0,01 % NaN₃ als Bakterizid

kurz schütteln, über Nacht bei 4°C stehen lassen.

+100 μ l ¹²⁵J-LH-RP-1, bzw. ¹²⁵J-LH-I-4 (2,5 μ g Standard-LH wurden nach der Chloramin-T-Methode mit ¹²⁵Jod (1 mCi) markiert und mit Sephadex G50 säulenchromatographisch abgetrennt)

kurz schütteln, über Nacht bei 4°C stehen lassen.

+100 μ l 2. Antikörper (= Goat Antibody to Rabbit- γ -Globulin, Fa, Cal-Biochem) gegen Kaninchenserum gerichtet.

kurz schütteln, bei 4°C mindestens 18 h stehen lassen.

10 min bei 2900 g zentrifugieren zur Trennung der gebundenen und freien LH-Moleküle. Der Überstand mit dem freien LH wird abgesaugt und verworfen.

Die Menge der ¹²⁵J-Radioaktivität des Sediments wurde in einem Gamma-Zählgerät (Fa. Berthold) gemessen.

Prinzip: Das LH der Probe bindet sich an den ersten Antikörper und verdrängt dabei das jodierte LH. Diese erste Bindungsreaktion befindet sich zum Zeitpunkt der Zugabe des 2. Antikörpers im Ungleichgewicht. Durch den 2. Antikörper wird der erste Antigen-Antikörper-Komplex präzipitiert. Diese 2. Reaktion befindet sich nach 18 Stunden im Gleichgewicht. Die Standardkurve wurde im Bereich von 1 bis 100 ng mit Standard-LH-RP-1 bzw. Standard-LH-I-4 des NIH erstellt. Aus dem Verhältnis freies ¹²⁵J-LH zu gebundenem ¹²⁵J-LH wurde mit Hilfe der Logit-Log-Transformation (siehe 4.3.1.) die Eichkurve erstellt und die Werte ermittelt.

Der Variationskoeffizient der Streuung in der Serie (intra-assay) war 11,5 % bei einer mittleren Konzentration von 42,4 ng LH/ml.

4.3.3. Quantitative Bestimmung von LHRH

Die Bestimmung von LHRH aus dem Gewebe der präoptischen Area, des medialen, basalen Hypothalamus und der medianen Eminenz erfolgte wie von Pirke et al. 1979 beschrieben. Es wurde ebenfalls die Doppelantikörpermethode angewandt. (siehe 4.3.2.). Die Gewebeproben wurden im Kühlraum (8°C) einzeln in jeweils 1,0 ml Methanol mit einem Glas-Glas-Potter homogenisiert. Anschließend wurde 10 min bei 2900 g zentrifugiert und der Überstand verwendet. Der Überstand wurde durch Überleiten von Stickstoff bis zur Trockene eingedampft und das LHRH in 500 µl 0,067 M Phosphatpuffer pH 7,4 mit NaN_3 als Bakterizid wieder aufgenommen. Die weitere Durchführung wie unter 4.3.2..

Als Markierungsstoff (tracer) wurde ^{125}J -LHRH verwendet. Dazu wurden 5 µg LHRH (Relefact Fa. Hoechst) mit 1 mCi ^{125}J od markiert, wie von Pirke 1976 beschrieben. Als erster Antikörper wurde ein Anti-LHRH-Antiserum verwendet, das von Pirke hergestellt worden war (Pirke et al. 1979) und eine Kreuzreaktivität mit ACTH, Vasopressin und anderen Stoffen von weniger als 0,1 % aufweist. Als 2. Antikörper wurde wie unter 4.3.2. Goat Antibody to Rabbit- γ -Globulin (Fa. CalBiochem) verwendet. Die Standardkurve wurde mit LHRH (Relefact Fa. Hoechst) im Bereich von 5 bis 500 pg erstellt.

Die Intraassay-variation lag bei 9,5 % bei einer mittleren Konzentration von 15 ng LHRH/mg. Die Proteinbestimmung erfolgte nach Lowry et al. 1951.

4.3.4. Quantitative Bestimmung der Katecholamine Dopamin und Noradrenalin und Bestimmung des Umsatzes

Dopamin und Noradrenalin wurden aus dem Gewebe der präoptischen Area, des basalen Hypothalamus und der medianen Eminenz in Anlehnung an DaPrader & Zürcher 1976 radioenzymatisch bestimmt. Die präoptische Area, der basalen Hypothalamus und die mediane Eminenz wurden wie unter 4.2.3. angegeben herausgestanzt oder abgeschnitten. Die Gewebestücke wurden mit 2x0,5 ml 0,1 N Perchlorsäure mit 0,1 % Ascorbinsäure in einem Glas-Glas-Potter

homogenisiert und anschließend 10 min bei 800 g, 4°C zentrifugiert. Der katecholaminhaltige Überstand wurde bis zur Bestimmung eingefroren.

Bestimmung: Die Katecholamine wurden mit einer ^3H -markierten Methylgruppe radioaktiv markiert, mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie aufgetrennt und die Quantität von Dopamin und Noradrenalin durch Bestimmung der Radioaktivität ermittelt. Die tritierte Methylgruppe stammt bei diesem Verfahren von ^3H -markiertem S-adenosyl-Methionin (Adenosyl-L-Methionin, S/methyl- ^3H / in H_2SO_4 Fa. New England Nuclear NEN) und wird mit Hilfe des Enzyms Katechol-o-Methyltransferase auf die Katecholamine übertragen. Dieses Enzym wurde durch schrittweise Ammoniumsulfatfällung (0 bis 40% und 40 bis 65% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) aus Rattenleber isoliert, gegen 0,02 M Natriumphosphatpuffer pH 7,2 dialysiert und mit 10% (V/V) Äthylenglykoll, 0,1M EDTA, 1mM Merkaptoäthanol zur Stabilisierung portionsweise in Eppendorfgläsern eingefroren. Die Enzymaktivität wurde mit Tryptamin als Substrat und der Proteingehalt nach Lowry et al. 1951 bestimmt.

Die Übertragung der ^3H -Methylgruppe erfolgte durch Inkubation im Wasserbad bei 37°C, 75 min in einem Puffer-Reaktionsgemisch (pH 8,1) das ^3H -S-adenosyl-Methionin enthält. Ferner enthält das Inkubationsgemisch Natrium-Tetraphenylborat zur Stabilisierung, sowie die UV-Licht-absorbierenden methylierten Endprodukte von Dopamin und Noradrenalin. Dies waren Methoxytyramin für Dopamin und Normetanephrin für Noradrenalin. Diese beiden Stoffe dienen zur Identifizierung der Positionen auf der Chromatographie-Platte.

Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe von 10 M Boratpuffer gestoppt. Anschließend wurde mit 2 x 5 ml Toluol-Isoamylalkohol (3:2, V/V) extrahiert. Dann wurden die Katecholamine aus der organischen Phase in eine saure Phase (0,5 ml 0,1 N HCl) gebracht. Diese wurde nach einmaligem Waschen mit wassergesättigtem Äthylacetat durch Überleiten von Stickstoff bis zur Trockene eingedampft und mit 50 µl Gemisch (8 ml Methanol, 1 ml 0,01 N HCl, 1 Tropfen Merkaptoäthanol) wieder aufgenommen. Die katecholaminhaltigen Proben wurden auf Kieselgel 60F-254-Platten (Fa. Merck) aufgetragen. Als Laufmittel für beide Richtungen der zweidimensionalen Dünnschicht-

chromatographie wurde Chlorophorm-Äthanol-Äthylamin (16:3:2) verwendet. Nach dem Trocknen wurden unter UV-Licht die durch die nicht radioaktiv markierten Referenzcatecholamine erkennbaren Flecken eingezeichnet. Diese wurden anschließend abgekratzt und in ein Plastikzählgefäß gegeben. Dopaminhaltige Flecken wurden mit 3 ml H₂O + 10 ml Instagel (Fa. Packard) als Szintillator im Szintillationszähler auf ihre Radioaktivität hin bestimmt. Die noradrenalinhaltigen Flecken wurden noch 10 min, 37°C in einer wässrigen Lösung mit 14 % Natriumperjodat (Oxidation) inkubiert, anschließend in eine organische Phase (Toluol) extrahiert und mit 10 ml Toluol-PPO-Szintillator gezählt.

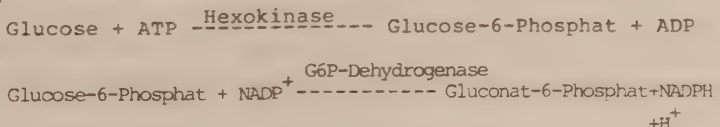
Die Mengen des in den Proben vorhandenen Dopamin und Noradrenalin wird im Vergleich mit Standardproben (1 µg Dopamin und 1 µg Noradrenalin), die in parallelen Ansätzen gleich behandelt werden, errechnet.

Die Interassay-Variabilität war 5,6 % bei einer mittleren Konzentration von 1,7 ng Noradrenalin in 50 µl Homogenat und 6,2% für Dopamin bei einer mittleren Konzentration von 3 ng. Der Proteingehalt wurde aus dem Rohhomogenat nach Lowry et al. 1951 bestimmt.

4.3.5. Quantitative Bestimmung von Glukose aus dem Blut

Die Bestimmung der Glukose-Konzentration erfolgte aus dem Vollblut mit Hilfe der Glucose-Test-Combination der Firma Boehringer Mannheim GmbH nach der Hexokinase-Methode.

Prinzip:



Die Menge an NADPH wird photometrisch gemessen.

4.3.6. Quantitative Bestimmung von Na^+ , K^+ und Ca^{++}
aus dem Serum

Die Bestimmung von Natrium, Kalium- und Kalzium-Ionen erfolgte aus dem Serum mit Hilfe des computergesteuerten 4-kanaligen Flammenphotometers (FCM 6341 Eppendorf). Die Messung erfolgt nach dem Leitlinienprinzip. Der Meßlösung wird ein konstanter Anteil des Referenz-Elementes Lithium zugesetzt. Na, K, Ca und Li werden in 4 Empfängern simultan gemessen. Der angeschlossene Rechner bildet aus den Meßsignalen die Quotienten $\frac{\text{Na}}{\text{Li}}$ $\frac{\text{K}}{\text{Li}}$ $\frac{\text{Ca}}{\text{Li}}$.

4.3.7. Messung der kapillaren, testikulären Durch-
blutung mit ¹³³Xenon

Die Messung der kapillaren Durchblutung der Rattentestes wurde in gleicher Weise wie von Pirke et al. 1979 beschrieben, durchgeführt. Sie erfolgte in der nuklearmedizinischen Abteilung der Klinik Rechts der Isar, München.

In jeweils einen Testis einer betäubten Ratte (Ketanest) wurden 50 µl des in 0,9 % NaCl gelösten Radioisotops ¹³³Xenon (50 µCi) gespritzt. Der Abtransport des radioaktiven Xenons in den Kapillaren des Testis wurde mit Hilfe einer Szintillationskamera verfolgt. (UPh-g-3hp, Nuclear Chicago, Des Plaines IL). An diese Kamera war ein PDP-11/40 Computer (Digital Equipment Corp. Maynard MA) angeschlossen, mit dessen Hilfe die Abnahme der Radioaktivität in den Testes in 3-Sekunden-Intervallen während einer Gesamtmeßzeit von 5 Minuten errechnet wurde.

4.3.8. Bestimmung der Alpha-Adrenozeptoren

Kapazität und Affinität der Alpha-Adrenozeptoren des basalen Hypothalamus wurden in Anlehnung an Greenberg et al. 1976 bestimmt.

4.3.8.1. Bestimmung der Kapazität und Affinität von WB4101-Rezeptoren

Bei der Substanz WB4101 handelt es sich um einen α_1 -noradrenergen Antagonisten. Für die Bestimmungen wurde das tritierte WB4101 (Phenoxy-3- $^3\text{H}(\text{N})$ -(2-(2,6-Dimethoxyphenoxymethyl)aminomethyl-1,4-Benzodioxan, (Phenoxy-3- $^3\text{H}(\text{N})$ -) der Firma New England Nuclear verwendet. Die spezifische Aktivität war 24,7 Ci/mmol bzw. 0,25 mCi = 0,0035 mg in 0,25 ml pro Charge. Bei Lieferung liegt das ^3H -WB4101 in einer Äthanol-Benzol-Lösung (9:1) vor. Vor dem Benützen wurde die Substanz auf Reinheit überprüft. Dazu wurde von einem Aliquot erst das Lösungsmittel Äthanol-Benzol durch Überleiten von Stickstoff verflüchtigt und der Rückstand anschließend in zwei Verdünnungen mit 0,1 N Essigsäure gelöst, auf Slika-Gel-F-Platten aufgetragen und in dem Lösungsmittelsystem n-Butanol:Essigsäure:Wasser (4:1:1) chromatographisch überprüft. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mit einem Dünnschicht-Scanner gemessen und aufgezeichnet.

Die Bindungsexperimente wurden in Dreifachbestimmungen ausgeführt. Aliquots des Homogenats (350-500 μg Protein) wurden in einem Gesamtvolumen von 1,0 ml 50 mM Tris-HCl, 0,1 % Ascorbinsäure pH 7,7 mit verschiedenen Mengen des radioaktiven ^3H -WB4101 (0,20-0,60 nM) über 15 min bei 25°C im bewegten Wasserbad inkubiert. Die Proteinbestimmung erfolgte nach Lowry et al. 1951. Nach Beendigung der Inkubation wurden die Reagensgläser sofort in Eis gestellt und das Inkubationsgemisch sehr rasch mit Vakuum durch Whatman Glasfiberfilter GF/B gefiltert. Die Filterplättchen waren jeweils zweimal mit 18 ml 50 mM Tris-HCl, 0,1 % Ascorbinsäure, 1 mM Pyrokatechol vorgespült worden, wodurch eine unspezifische Filterbindung

100 prozentig verhindert wurde. Die Filter wurden anschließend zweimal mit 5 ml eiskaltem Puffer nachgespült, um ungebundenes radioaktives Material zu entfernen. Die Filterplättchen wurden direkt in Zählgefäße gegeben und jeweils mit 10 ml Instagel (Fa. Packard) in einem Packard-Szintillationszähler ausgezählt. Die spezifische Bindung des ^3H -WB4101 an das Material des basalen Hypothalamus wurde als Differenz zwischen der Gesamtbindung und der unspezifischen Bindung ermittelt. Die unspezifische Bindung wurde in Parallelproben gemessen, die zusätzlich $100\mu\text{M}$ (-)Noradrenalin (Fa. Sigma) enthielten.

Für die Inkubationen lagen ^3H -WB4101 und (-)Noradrenalin in 0,1 prozentiger Ascorbinsäure verdünnt vor.

4.3.8.2. Bestimmung von Kapazität und Affinität der Clonidinrezeptoren

Bei der Substanz Clonidin handelt es sich um einen α_2 -noradrenergen Agonisten.

Verwendet wurde (^3H)-Clonidin-Hydrochlorid der Firma New England Nuclear (NEN), Molekulargewicht 266,6, spezifische Aktivität 23,8 Ci/mMol, bzw. 0,25 mCi pro 0,0028 mg in 0,25 ml pro Charge. Das Clonidin lag in einer Lösung von Äthanol:Wasser (7:3) vor und wurde für die Tests direkt mit 0,1 % Ascorbinsäure verdünnt. Jede Charge ^3H -Clonidin wurde mit Dünnschichtchromatographie auf Silikagel-F-Platten im Laufmittelsystem n-Butanol:Essigsäure:Wasser (4:1:5) auf Reinheit getestet.

Alle Bindungsexperimente wurden auch hier in Dreifachbestimmung durchgeführt. Vorweg war ebenfalls das lineare Bindungsverhalten im Bereich von 250 bis 1000 µg Protein pro Inkubationsgemisch als positiv ermittelt worden. Inkubiert wurde in einem Endvolumen von 1,0 ml mit Proteinmengen zwischen 350 und 500 µg und ³H-Clonidinkonzentrationen über den Bereich von 0,27 nM bis 12,14 nM bei 25°C, 30 min im bewegten Wasserbad. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart eines Überschusses von unmarkiertem Clonidin (1 µM) (Catapresan, Boehringer Ingelheim) ermittelt.

5. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Krankheit Anorexia nervosa, auch Pubertätsmagersucht genannt, tritt überwiegend beim weiblichen, in vereinzelten Fällen aber auch beim männlichen Geschlecht auf. Neben anderen Störungen ist bei Anorexia nervosa die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigt. Die Fortpflanzungsfunktionen unterliegen der endokrinen Steuerung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. Die funktionellen Veränderungen dieser Achse durch Unterernährung wurden an der Ratte, als Tiermodell zur Anorexia nervosa, untersucht.

Bei Mangeler ernährung kommt es zu einem starken Abfall des Serumspiegels von Testosteron. Die Konzentration des Testosterons wurde radioimmunologisch bestimmt. Die kapillare Durchblutung der Testes, die bei der Ausschüttung des Steroids Testosteron aus den Gonaden eine Rolle spielt, zeigte sich ebenfalls als vermindert. Die Funktionsfähigkeit der Gonaden ist jedoch durch die Mangeler ernährung an sich nicht beeinträchtigt. Die Reaktion auf die Stimulation mit dem Gonadotropin HCG ist sogar bei den ausgehungerten Tieren stärker als bei den ernährten Kontrolltieren.

Die Messung der Konzentration des Gonadotropins LH im Serum erfolgte radioimmunologisch mit der Doppel-Antikörpermethode. Nach fünftägiger Mangeler ernährung ist die LH-Konzentration im Serum sehr stark reduziert, obwohl der LH-Gehalt der Adenohypophyse sich nicht von dem der Kontrolltiere unterscheidet. Das luteinisierende Hormon LH wird offensichtlich bei Unterernährung nicht aus der Adenohypophyse ausgeschüttet. Die Funktion der Hypophyse wurde mit dem Releasing Hormon LHRH überprüft. Die Hypophyse reagierte bei unveränderter Empfindlichkeit mit einer dosisabhängigen LH-Ausschüttung, die jedoch nicht die gleichen Maximalwerte erreichte, wie in den ernährten Tieren.

Durch Kastration der Ratten mit anschließender Implantation von testosteronhaltigen Silikonkapseln verschiedener Länge wurden konstante Testosteron-Spiegel unterschiedlicher Höhe eingestellt. Auf diese Weise wurde der Feedback-Mechanismus Testosteron - LH

untersucht. Eine erhöhte Feedback-Sensitivität gegen Testosteron auf hypothalamischer Ebene wurde nach fünf Tagen Mangelerernährung festgestellt.

Die Ausschüttung des luteinisierenden Hormons LH aus der Hypophyse wird durch das Releasing Hormon LHRH stimuliert. Das LHRH wird im Hypothalamus synthetisiert und über die mediane Eminenz in die Portalgefäße ausgeschüttet. Die Ausschüttung des Releasing Hormons aus den LHRH-Neuronen wird durch noradrenerge und dopaminerge Neuronen moduliert.

Da LH in der Hypophyse bei Mangelerernährung vorhanden ist, aber nicht zur Ausschüttung kommt, wurde der LHRH-Gehalt in verschiedenen Bereichen des Hypothalamus radioimmunologisch bestimmt. Es wurde kein LHRH-Mangel, sondern in wichtigen Bereichen wie der medianen Eminenz erhöhte LHRH-Konzentrationen gefunden. Da die Katecholamine Dopamin und Noradrenalin die Ausschüttung des LHRH's stimulieren können, wurde die Konzentration und der Umsatz dieser Neurotransmitter in den gleichen Hypothalamusbereichen untersucht. Die Bestimmung der beiden Katecholamine erfolgte radioenzymatisch mit anschließender zweidimensionaler Chromatographie. Bereits nach zwei Tagen Mangelerernährung sanken Konzentration und Umsatz der beiden Transmitter ab. Dies kann die Ursache der unzureichenden Stimulation der LHRH-Neuronen sein.

Durch die Gabe von Katecholamin-Prekursoren und einem alpha-noradrenergen Agonisten wurde versucht, diesen Mangel auszugleichen. Es gelang jedoch auf diese Art nicht, die LHRH- und eine nachfolgende LH-Ausschüttung auszulösen. Nur mit dem Prostaglandin E_2 gelang es, trotz Unterernährung LH aus der Hypophyse freizusetzen.

Da die Behandlung mit den Katecholamin-Prekursoren und dem noradrenergen Agonisten wirkungslos blieb, wurden die alpha-Adrenozeptoren des basalen Hypothalamus untersucht. Es zeigte sich, daß sowohl die α_1 , als auch die α_2 noradrenergen Rezeptoren in diesem Bereich eine deutlich verminderte Affinität haben. Diese Tatsache könnte dafür verantwortlich sein, daß die katecholamin-Prekursoren und der noradrenerge Agonist keine Wirkung zeigten.

ANHANG

LITERATURVERZEICHNIS:

- Adashi E.Y., Hsueh A.J.W., Yen S.S.C.
INSULIN ENHANCEMENT OF LUTEINIZING HORMONE AND FOLLICLE-STIMULATING HORMONE RELEASE BY CULTURED PITUITARY CELLS Endo. 108,1441-1449,1981
- Advis J.P., McCann S.M., Negro-Vilar A.
EVIDENCE THAT CATECHOLAMINERGIC AND PEPTIDERGIC (LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE) NEURONS IN SUPRACHIASMATIC-MEDIAL PREOPTIC, MEDIAL BASAL HYPOTHALAMUS AND MEDIAN EMINENCE ARE INVOLVED IN ESTROGEN-NEGATIVE FEEDBACK Endo. 107,892-901,1980
- Agnati L.F., Fuxe K., Kuonen D., Blake C.A., Andersson K., Eneroth P., Gustafsson J.A., Battistini N., Calza L. EFFECTS OF ESTROGEN AND PROGESTERONE ON CENTRAL α - AND β -ADRENERGIC RECEPTORS IN OVARIETOMIZED RATS: EVIDENCE FOR GONADAL STEROID RECEPTOR REGULATION OF BRAIN α - AND β -ADRENERGIC RECEPTORS Fuxe K., Gustafsson J.A., Wetterberg L. Eds. Steroid Hormone Regulation of the Brain, Pergamon Press 1981, 237-251
- Ajika K. RELATIONSHIP BETWEEN CATECHOLAMINERGIC NEURONS AND HYPOTHALAMIC HORMONE CONTAINING NEURONS IN THE HYPOTHALAMUS Eds. Martini L., Ganong W.F., Frontiers in Neuroendocrinology Raven Press, New York 1980,1-32.
- Andrews W.W., Advis J.P., Ojeda S.R. THE MATURATION OF ESTRADIOL-NEGATIVE FEEDBACK IN FEMALE RATS: EVIDENCE THAT THE RESETTING OF THE HYPOTHALAMIC "GONADOSTAT" DOES NOT PRECEDE THE FIRST PREOVULATORY SURGE OF GONADOTROPINS Endo 109,2022-2031,1981.
- Anton-Tay F., Wurtman R.J. NOREPINEPHRINE: TURNOVER IN RAT BRAINS AFTER GONADECTOMY Science 15,1245-1246,1968
- Auclair C., Kelly P.A., Coy D.H., Schally A.V., Labrie F. POTENT INHIBITORY ACTIVITY OF (D-LEU⁶, DES-GLY-NH₂)LHRH ETHYLAMIDE ON LH/hCG AND PRL TESTICULAR RECEPTOR LEVELS IN THE RAT Endo.101,1890-1893,1977.
- Badger T.M., Wocox C.E., Meyer E.R., Bell R.D., Cicero T.J. SIMULTANEOUS CHANGES IN TISSUE AND SERUM LEVELS OF LUTEINIZING HORMONE, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE AND LUTEINIZING HORMONE/FOLLICLE-STIMULATING HORMONE RELEASING FACTOR AFTER CASTRATION IN THE MALE RAT Endo. 102,136-141,1978
- Bahl O.P. HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN, ITS RECEPTOR AND MECHANISM OF ACTION Federation Proc. 36,2119-2127,1977.
- Bambino T.H., Schreiber J.R., Hsueh A.J.W. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE AND ITS AGONIST INHIBIT TESTICULAR LUTEINIZING HORMONE RECEPTOR AND STEROIDOGENESIS IN IMMATURE AND ADULT HYPOPHYSECTOMIZED RATS Endo. 107,908-917,1980
- Bambino T.H., Hsueh A.J.W. DIRECT INHIBITORY EFFECT OF GLUCOCORTICOID UPON TESTICULAR LUTEINIZING HORMONE RECEPTOR AND STEROIDOGENESIS IN VIVO AND IN VITRO Endo. 108,2142-2148,1981
- Barnea A., Cho G., Porter J.C. EFFECT OF AGING ON THE SUBNEURONAL DISTRIBUTION OF LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE IN THE HYPOTHALAMUS Endo. 106, 1980-1988,1980
- Bergström S., Farnebo L., Fuxe K. EFFECT OF PROSTAGLANDINE E₂ ON CENTRAL AND PERIPHERAL CATECHOLAMINE NEURONS E.J. Pharmacol. 21,362-368,1973
- Bourne G.A., Baldwin D.M. EXTRACELLULAR Ca⁺⁺ INDEPENDENT AND DEPENDENT COMPONENTS OF THE BIPHASIC RELEASE OF LH IN RESPONSE TO LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE IN VITRO Endo. 107,780-788,1980

- Braunwalder A., Stone G., Lovell R.A., CHARACTERISATION OF ³H-CLONIDINE BINDING TO TWO SITES IN CALF BRAIN MEMBRANES *J.Neurochem.* 37,70-78,1981
- Bruch, Hilde ANOREXIA NERVOSA aus "Nutrition and the Brain" ed.by R.J.Wurtman and J.J. Wurtman, Raven Press N.Y. Vol.3, 101-105,1979
- Bunney B.S., Aghajanian G.K., Roth R.H. COMPARISON OF EFFECTS OF L-DOPA, AMPHETAMINE AND APOMORPHINE ON FIRING RATE OF RAT DOPAMINERGIC NEURONS *Nature New Biology* 245,123-125, 1973
- Campbell G.A., Kurcz M., Marshall S., Meites J. EFFECTS OF STARVATION ON SERUM LEVELS OF FOLLICLE STIMULATING HORMONE, LUTEINIZING HORMONE, THYROTROPIN, GROWTH HORMONE AND PROLACTIN, RESPONSE TO LH-RELEASING HORMONE AND THYROTROPIN-RELEASING HORMONE *Endo.* 100, 580-588, 1977
- Cahill G.F., Aoki T.T., Rossini A.A. METABOLISM IN OBESITY AND ANOREXIA NERVOSA aus "Nutrition and the Brain" ed. by R.J. Wurtman and J.J. Wurtman Raven Press N.Y., Vol. 3, 1-70, 1979
- Carlson J.C., Kehl S.J., PROSTAGLANDIN STIMULATED LH RELEASE IN CYCLIC AND OVARIETOMIZED RATS *Acta Endocrinologica* 92, 20-27,1979
- Catt K.J., Baukal A.J., Davies T.F., Dufau M.L. LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE-INDUCED REGULATION OF GONADOTROPIN AND PROLACTIN RECEPTORS IN THE RAT TESTIS *Endo.* 104,17-25, 1979
- Catt K.J., Dufau M.L. INTERACTIONS OF LH AND HCG WITH TESTICULAR GONADOTROPIN RECEPTORS *Adv. in Exp. Med. and Biol.* 36,379-418,1973
- Chan V., Katikineni M., Davies T.F., Catt K.J. HORMON REGULATION OF TESTICULAR LUTEINIZING HORMONE AND PROLACTIN RECEPTORS *Endo.* 108,1607-1612, 1981
- Chapman D. LIPID DYNAMICS IN CELL MEMBRANES aus "Cell Membranes-Biochemistry Cell Biology and Pathology" ed. by G.Weissmann, R. Claiborne, HP Publishing Co 1975 N.Y., 13-22, 1975
- Chiocchio S.R., Cannata M.A., Tramezzani J.H. THE SIZE, WEIGHT AND CATECHOLAMINE CONTENT OF THE MEDIAN EMINENCE OF THE RAT *Brain Research* 110.612-618,1976
- Chiocchio S.R., Chafuen S., Tramezzani J.H. CHANGES IN ADENOHYPOPHYSIAL DOPAMINE RELATED TO PROLACTIN RELEASE *Endo.* 106,1682-1685, 1980
- Chobsieng P., Naor Z., Koch Y., Zor U., Lindner H.R. STIMULATORY EFFECT OF PROSTAGLANDINE E₂ ON LH RELEASE IN THE RAT:EVIDENCE FOR HYPOTHALAMIC SITE OF ACTION *Neuroendocrinology* 17,12-17,1975
- Cocchi D., Frascini F., Jallanbo H., Müller E.E. ROLE OF BRAIN CATECHOLAMINES IN THE POSTCASTRATION RISE IN PLASMA LH OF PREPUBERTAL RATS *Endo.* 95, 1649-1657, 1974
- Cohen I.R., Mann D.R. INFLUENCE OF CORTICOSTERONE ON THE RESPONSE TO GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE IN RATS *Neuroendocrinology* 32,1-6,1981
- Conn P.M., Rogers D.C., Dandhu F.S. ALTERATION ON THE INTRACELLULAR CALCIUM LEVEL STIMULATES GONADOTROPIN RELEASE FROM CULTURED RAT ANTERIOR PITUITARY CELLS *Endo.* 105, 1122-1127, 1979
- Conn P.M., Rogers D.C. GONADOTROPIN RELEASE FROM PITUITARY CULTURES FOLLOWING ACTIVATION OF ENDOGENOUS ION CHANNELS *Endo.* 107,2133-2134,1980
- Conn P.M. Morrell D.V., Dufau M.L., Catt K.J. GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ACTION IN CULTURED PITUITARY CELLS: INDEPENDENCE OF LUTEINIZING HORMONE RELEASE AND ADENOSINE 3',5'-MONOPHOSPHATE PRODUCTION *Endo.* 104,448-453,1979

- Cooper J.R., Bloom F.E., Roth R.H. THE BIOCHEMICAL BASIS OF NEUROPHARMACOLOGY III. Edt Oxford University Press N.Y. 60-71, 1978
- Cubeddu L., Barnes E.M., Langer S.Z., Weiner N. RELEASE OF NOREPINEPHRINE AND DOPAMINE- β -HYDROXYLASE BY NERVE STIMULATION. I. ROLE OF NEURONAL AND EXTRA-NEURONAL UPTAKE AND OF ALPHA-PRESYNAPTIC RECEPTORS
J. Pharmacol. Exper. Ther. 190,431-450,1974
- Damassa D.A., Kobashigawa D., Smith E.R., Davidson J.M., NEGATIVE FEEDBACK CONTROL OF LH BY TESTOSTERONE: A QUANTITATIVE STUDY IN MALE RATS
Endo. 99, 736-741, 1976
- DaPrada M., Zürcher G. SIMULTANEOUS RADIOENZYMATIC DETERMINATION OF PLASMA AND TISSUE ADRENALIN, NORADRENALIN AND DOPAMINE WITHIN THE FEMTOMOLE RANGE
Life Sciences 19,1161-1174, 1976
- Darney K.J., Ewing L. AUTOREGULATION OF TESTOSTERONE SECRETION IN PERFUSED RAT TESTES
Endo. 109, 993-995, 1981
- Denizeau F., Dubé D., Antakly T., Lemay A., Parent A., Pelletier G., Labrie F. ATTEMPTS TO DEMONSTRATE PEPTIDE LOCALISATION AND SECRETION IN PRIMARY CELL CULTURES OF FETAL RAT HYPOTHALAMUS
Neuroendocrinology 32,96-102,1981
- Drouin J., Labrie F. SELECTIVE EFFECTS OF ANDROGENS ON LH AND FSH RELEASE IN ANTERIOR PITUITARY CELLS IN CULTURE
Endo, 98, 1528-1534, 1976
- Drouin J., Labrie F. SPECIFICITY OF THE STIMULATORY EFFECT OF PROSTAGLANDINS ON HORMONE RELEASE IN RAT ANTERIOR PITUITARY CELLS IN CULTURE
Prostaglandins 11,355-361,1976
- Dufau M.L., Cigorrage S., Baukal A.J., Sorrell S., Bator J.M., Neubauer J.F., Catt K.J. ANDROGEN BIOSYNTHESIS IN LEYDIG CELLS AFTER TESTICULAR DESENSITIZATION BY LUTEINIZING-HORMONE-RELEASING HORMONE AND HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN
Endo. 105, 1314-1321, 1979
- Dufy B., Partouche C., Poulain D., Dufy-Barbe L., Vincent J.D. EFFECTS OF ESTROGEN ON THE ELECTRICAL ACTIVITY OF IDENTIFIED AND UNIDENTIFIED HYPOTHALAMIC UNITS.
Neuroendocrinology 22,38-47, 1976
- Dufy B., Vincent J.D. EFFECTS OF SEX STEROIDS ON CELL MEMBRANE EXCITABILITY A NEW CONCEPT FOR THE ACTION OF STEROIDS ON THE BRAIN aus "Hormones and the Brain" Eds. De Wies D., von Keep P.A., 29-41, 1980
- Eik-Nes K.B. ON THE RELATIONSHIP BETWEEN TESTICULAR BLOOD FLOW AND SECRETION OF TESTOSTERONE IN ANESTHETIZED DOGS STIMULATED WITH HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN
Ca. J. Physiol.Pharmacol. 42,671-677, 1964
- Ferland L., Marchetti B., Séguin C., Lefebvre F.A., Reeves T.J., Labrie F. DISSOCIATED CHANGES OF PITUITARY LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE LHRH RECEPTORS AND RESPONSIVENESS TO THE NEUROHORMONE INDUCED BY 17 β -ESTRADIOL AND LHRH IN VIVO IN THE RAT
Endo 109, 87-93, 1981
- Ferrari C., Rampini P., Malinverni A., Scarduelli C., Benco R., Caldara R. et al. INHIBITION OF LUTEINIZING HORMONE RELEASE BY DOPAMINE INFUSION IN HEALTHY WOMEN AND IN VARIOUS PATHOPHYSIOLOGICAL CONDITIONS
Acta endo. 97,436-440,1981
- Friedman S., Kaufman S.
3,4-DIHYDROXYPHENYLETHYLAMINE- β -HYDROXYLASE
J.Biol. Chem. 240,4763-4773, 1965
- Fritjofsson A., Persson J., Pettersson S. TESTICULAR BLOOD FLOW IN MAN MEASURED WITH XENON-133
Scand. J. Urol.Nephrol. 3,276-280,1969
- Fuxe K., Löfström A., Eneroth P., Gustafsson J., Skett P., Hökfelt T., Wiesel F. Agnati L. INVOLVEMENT OF CENTRAL CATECHOLAMINES IN THE FEEDBACK ACTIONS OF 17 β -ESTRADIOLBENZOATE ON LUTEINIZING HORMONE SECRETION IN THE OVARECTOMIZED FEMALE RAT
Psychoneuroendocrinology 2,203-225,1977

- Fuxe K., Hökfelt T., Agnati L.F., Johansson O., Goldstein M., Perez de la Mora M., Possani L., Tapia R., Teran L., Palacios R. MAPPING OUT CENTRAL CATECHOLAMINE NEURONS: IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES ON CATECHOLAMINE-SYNTHESIZING ENZYMES aus "Psychopharmacology: A Generation of Progress" eds. M.A. Lipton, A. Di-Mascio, K.F. Killam Raven Press N.Y. 67-94, 1978
- Gallo R.V. FURTHER STUDIES ON DOPAMINE INDUCED SUPPRESSION OF PULSATIL LH RELEASE IN OVARECTOMIZED RATS *Neuroendocrinology* 32, 187-192, 1981
- Gandy H.M., Moody C.B., Peterson E.E., ANDROGEN LEVELS IN OVARIAN AND ADRENAL VENOUS PLASMA *Proc. Vth Panamer. Congr. Endocr.* 1965. *Excerpta medica Foundation* (Amsterdam). *Internat. Congr. Series* 112, 223, 1966
- Gaulin S.J.C., Konner M. ON THE NATURAL DIET OF PRIMATES, INCLUDING HUMANS aus "Nutrition and the Brain" eds. R.J. Wurtman and J.J. Wurtman Raven Press N.Y. 1-86, 1977
- Glossmann H., Hornung R. α -ADRENOCEPTORS IN RAT BRAIN: SODIUM CHANGES THE AFFINITY OF AGONISTS FOR PRAZOSIN SITES *E.J. Pharmacol.* 61, 407-408, 1980
- Greenberg D.A., U'Prichard D.C., Snyder S.H. ALPHA-NORADRENERGIC RECEPTOR BINDING IN MAMMALIAN BRAIN: DIFFERENTIAL LABELING OF AGONIST AND ANTAGONIST STATES *Life Sciences* 19, 69-76, 1976
- Guillemin R., McCann S.M., Sawyer C.H., Davidson J.M. SECRETIONS OF GONADOTROPINS aus "Frontiers in Reproduction and Fertility Control" eds. R.O. Greep, M.A. Koblinsky MIT Press Cambridge/Mass. 90-101, 1977
- Hedqvist P. ASPECTS ON PROSTAGLANDIN AND β -RECEPTOR MEDIATED CONTROL OF TRANSMITTER RELEASE FROM ADRENERGIC NERVES *Frontiers in Catecholamine Research* 583-587, 1973 Pergamon Press
- Honma K., Wuttke W. NOREPINEPHRINE AND DOPAMINE TURNOVER RATES IN THE MEDIAL PREOPTIC AREA AND THE MEDIOBASAL HYPOTHALAMUS OF THE RAT BRAIN AFTER VARIOUS ENDOCRINOLOGICAL MANIPULATIONS *Endo.* 106, 1848-1853, 1980
- Howland B.E., Skinner K.R. EFFECT OF STARVATION ON GONADOTROPIN SECRETION IN INTACT AND CASTRATED RATS *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 51, 759-762, 1973
- Hsueh A.J.W., Dufau M.L., Catt K.L. REGULATION OF LUTEINIZING HORMONE RECEPTORS IN TESTICULAR INTERSTITIAL CELLS BY GONADOTROPIN *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 72, 1145-1152, 1976
- Huhtaniemi I.T., Katikineni M., Chan V., Catt K. GONADOTROPIN-INDECEDED POSITIVE REGULATION OF TESTICULAR LUTEINIZING HORMONE RECEPTORS *Endo.* 108, 58-65, 1981
- Joffe J., Joffe M., SEASONAL CHANGES IN THE TESTICULAR BLOOD FLOW OF SEASONALLY BREEDING MAMMALS: DORMOUS, GLIS GLIS, FERRET, MUSTELLA FURIO AND FOX, VULPES VULPES *J. Reprod. Fert.* 34, 227-233, 1973
- Kalra P.S., Kalra S.P. CIRCADIAN PERIODICITIES OF SERUM ANDROGEN, PROGESTERONE, GONADOTROPHINS AND LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE IN MALE RATS: THE EFFECT OF HYPOTHALAMIC DEAFFERENTIATION, CASTRATION AND ADRENALECTOMY *Endo.* 101, 1821-1827, 1977
- Kao L.W., Gunsalus G.L., Williams G.H., Weisz J. RESPONSE OF THE PERFUSED ANTERIOR PITUITARIES OF RATS TO SYNTHETIC GONADOTROPIN RELEASING HORMONE: A COMPARISON WITH HYPOTHALAMIC EXTRACT AND DEMONSTRATION OF A POLE FOR POTASSIUM IN THE RELEASE OF LUTEINIZING HORMONE AND FOLLICLE STIMULATING HORMONE *Endo.* 101, 1444-1454, 1977
- Kawano H., Daikoku S. IMMUNOHISTOCHEMICAL DEMONSTRATION OF LHRH NEURONS AND THEIR PATHWAYS IN THE RAT HYPOTHALAMUS *Neuroendocrinology* 32, 179-186, 1981

- Kelly R.B., Deutsch J.W., Carlson S.S., Wagner J.A. .BIOCHEMISTRY OF NEURO-TRANSMITTER RELEASE Ann. Rev. Neurosci. 2,399-446,1979
- Kety S.S., THE THEORY AND APPLICATIONS OF THE EXCHANGE OF INERT GAS AT THE LUNGS AND TISSUES Pharmacol.Rev. 3,1-41,1951
- Kizer J.S., Palkovits M., Zivin J., Brownstein M., Saavedra J.M., Kopin I.J. THE EFFECT OF ENDOCRINOLOGICAL MANIPULATIONS IN TYROSIN HYDROXYLASE AND DOPAMINE- β -HYDROXYLASE ACTIVITIES IN INDIVIDUAL HYPOTHALAMIC NUCLEI OF THE ADULT MALE RAT Endo. 95, 799,812, 1974
- Knigge K.M., Joseph S.A., Hoffman G.E., ORAGNISATION OF LRF- AND SRIF-NEURONS IN THE ENDOCRINE HYPOTHALAMUS aus "The Hypothalamus" eds. Reichlin S., Bal-dessarini R.J., Martin J.B. Raven Press N.Y, 49-67, 1978
- Kordon C., Enjalbert A., Epelbaum J., Rotsztejn W. NEUROTRANSMITTER INTERACTIONS WITH ADENOHYPOPHYSIAL REGULATION aus "Brain Peptides: A New Endocrinology" eds. Gotta A.M., Peck E.J., Boyed A.E. Elsevier Biomedical Press 277-293,1979
- Kretser D.M. de, Sharpe R.M., Swanston I.A. ALTERATIONS IN STEROIDOGENESIS AND HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN BINDING IN THE CRYPTORCHID RAT TESTIS Endo. 105, 135-138, 1979
- LaBrie F., Drouin J., Ferland L., Lagacé L., Beaulieu M., DeLéan A., Kelly P. MECHANISM OF ACTION OF HYPOTHALAMIC HORMONES IN THE ANTERIOR PITUITARY GLAND AND SPECIFIC MODULATION OF THEIR ACTIVITY BY SEX STEROIDS AND THYROID HORMONES aus "Recent Progress in Hormone Research" edt. by Greep R.O. Academic Press N.Y. 34, 25- 93, 1978
- Langer S.Z. PRESYNAPTIC REGULATION OF CATECHOLAMINE RELEASE Biochem.Pharmacol. 23, 1793- 1800, 1973
- Lee G., Aloj S.M., Brady R.O., Kohn L.D. THE STRUCTURE AND FUNCTION OF GLYCO-PROTEIN HORMONE RECEPTORS: GANGLIOSIDE INTERACTIONS WITH HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN Biochem. Biophys. Res. Comm. 73, 370-377, 1976
- Lehninger A.L. BIOCHEMISTRY Second Edition Woth Publishers N.Y. 1975
- Lefkowitz R.J., Hoffman B.B. NEW DIRECTIONS IN ADRENERGIC RECEPTOR RESEARCH Part II, TIPS Sep. 1980, 369- 372.
- Leung P.C.K., Whitmoyer D.I., Arendash G.W., Sawyer C.H. EFFECTS OF INTRAVENTRI-CULAR MOREPINEPHRINE ON PREOPTIC ANTERIOR HYPOTHALAMIC ELECTRICAL ACTIVITY IN THE FREELY MOVING RAT: MODULATION BY OVARIEN STEROID HORMONES Brain Research 226, 143-154, 1981
- Liu T., Ax R.L., Jackson G.L. CHARACTERISATION OF LUTEINIZING HORMONE SYNTHESIZED AND RELEASED BY RAT PITUITARIES IN VITRO: DISSOCIATION OF IMMUNOLOGICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES Endo. 105, 10-15, 1979
- Lovenberg W., Ames M.M., Lerner P. MECHANISM OF SHORT-TERM REGULATION OF TYRO-SINE HYDROXYLASE aus "Psychopharmacology: A Generation of Progress" edt. by Lipton M.A., DiMascio A., Killam K.F. Raven Press N.Y. 247- 257, 1978
- Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT J. Biol. Chem. 193,265-275,1951
- Mandell A.J., Knapp S. ADAPTIVE REGULATION IN CENTRAL BIOGENIC AMINE NEURONS aus "Psychopharmacology: A Generation of Progress" eds. Lipton M.A. DiMascio A., Killam K.F. Raben Press N. Y. 205- 216, 1978

- Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G., Arimura A., Schally A.V. STRUCTURE OF THE PORCINE LH- AND FSH-RELEASING HORMONE. I. THE PROPOSED AMINO ACID SEQUENCE Biochem. Biophys Res. Comm. 43, 1334-1339, 1971
- Meermann R. DAS KRANKHEITSBILD DER ANOREXIA NERVOSA IN DER HEUTIGEN WISSENSCHAFTLICHEN DISKUSSION Aus "Anorexia Nervosa" edt. Rolf Meermann Enke-Verlag Stuttgart 1981
- Mess B. FUNCTIONAL ANATOMY OF THE HYPOTHALAMUS AND ITS AFFERENT AND EFFERENT PATHWAYS Aus "Endocrinology" edt. DeGroot L.Y. Verlag Grune & Stratton 3- 14, 1979
- Michel T., Hoffman B.B., Lefkowitz R.J. DIFFERENTIAL REGULATION OF THE β -ADRENERGIC RECEPTOR BY Na^+ AND GUANINE NUCLEOTIDES Nature 288,709-711,1980
- Moor R.Y. NEUROENDOCRINE REGULATION OF REPRODUCTION aus "Reproductive Endocrinology" eds. Yen S.S.C., Jaffe R.B. Phil. 3- 33, 1979
- Morris P. L., Saxena B.B. DOSE- AND AGE-DEPENDENT EFFECTS OF PROLACTIN (PRL) ON LUTEINIZING HORMONE- and PRL-BINDING SITES IN RAT LEYDIG CELL HOMOGENATES Endo. 107, 1639-1645, 1980
- Mrosovsky N. HIBERNATION AND THE HYPOTHALAMUS Appleton-Century-Crofts 1968
- Müller E.E., Nisticò G., Scapagnini U. NEUROTRANSMITTERS AND ANTERIOR PITUITARY FUNCTION Academic Press N.Y. 1977
- Nakano H., Fawcett C.P., Kimura F., McCann S.M. EVIDENCE FOR THE INVOLVEMENT OF GUANOSINE 3',5'-CYCLIC MONOPHOSPHATE IN THE REGULATION OF GONADOTROPIN RELEASE Endo. 103, 1527- 1533, 1978
- Nakamura S., Tepper J.M., Young S.J., Groves P.M. NEUROPHYSIOLOGICAL CONSEQUENCES OF PRESYNAPTIC RECEPTOR ACTIVATION: CHANGES IN NORADRENERGIC TERMINAL EXCITABILITY Brain Research 226, 155- 170, 1981
- Nansel D.D., Trent D.F. FREQUENCY MODULATION OF PULSATILE LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE STIMULATION CAN ALTER THE EFFECTIVENESS OF DIRECT ANDROGEN FEEDBACK ON LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE-INDUCED LUTEINIZING HORMONE RELEASE Endo. 104, 532- 535, 1979
- Nansel D.D., Aiyer M.S., Meinzer W.H., Bogdanove E.M. RAPID DIRECT EFFECTS OF CASTRATION AND ANDROGEN TREATMENT ON LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE-INDUCED LUTEINIZING HORMONE RELEASE IN THE PHENOBARBITAL-TREATED MALE RAT: EXAMINATION OF THE ROLES DIRECT AND INDIRECT ANDROGEN FEEDBACK MECHANISMS MIGHT PLAY IN THE PHYSIOLOGICAL CONTROL OF LUTEINIZING HORMONE RELEASE Endo. 104, 524- 531, 1979
- Neer E.J. DETERGENT SOLUBILIZES THE DISSOCIATED CATALYTIC UNIT OF TESTICULAR ADENYLATE CYCLASE FEBS Letters 125, 134- 136, 1981
- Negro-Vilar A., Ojeda S.R., McCann S.M. CATECHOLAMINERGIC MODULATION OF LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE RELEASE BY MEDIAN EMINENCE TERMINALS IN VITRO Endo. 104, 1749- 1757, 1979
- Ojeda S.R., Wheaton J.E., McCann S.M. PROSTAGLANDIN E_2 -INDUCED RELEASE OF LUTEINIZING HORMONE-RELEASING FACTOR (LRF) Neuroendo. 17,283-287,1975
- Ojeda S.R., Jameson H.E., McCann S.M. HYPOTHALAMIC AREAS INVOLVED IN PROSTAGLANDIN(PG)-INDUCED GONADOTROPIN RELEASE. I: EFFECTS OF PGE_2 AND PGF_2 IMPLANTS ON LUTEINIZING HORMONE RELEASE Endo 100, 1585-1594, 1977
- Ojeda S.R., Naor Z., McCann S.M. PROSTAGLANDIN E LEVELS IN HYPOTHALAMUS, MEDIAN EMINENCE AND ANTERIOR PITUITARY OF RATS OF BOTH SEXES Brain Research 149, 274-277, 1978

- Ojeda S.R., Negro-Vilar A., McCann S.M. RELEASE OF PROSTAGLANDIN E_s BY HYPOTHALAMIC TISSUE: EVIDENCE FOR THEIR INVOLVEMENT IN CATECHOLAMINE-INDUCED LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE RELEASE *Endo.* 104, 617-624, 1979
- Palkovits M., Brownstein M., Saavedra J.M., Axelrod J. NOREPINEPHRINE AND DOPAMINE CONTENT OF HYPOTHALAMIC NUCLEI OF THE RAT *Brain Research* 77, 137-149, 1974
- Peck E.J., Tytell M., Boyd A.E., Barr G. EFFECTS OF STEROID HORMONES ON NEURAL PEPTIDES aus "Brain Peptides: A New Endocrinology" eds. Gotto A.M., Peck E.J. Boyd A.E. Elsevier Biomedical Press 241- 258, 1979
- Perrin M.H., Vaughan J.M., Rivier J.E., Vale W.W. HIGH AFFINITY GnRH BINDING TO TESTICULAR MEMBRANE HOMOGENATES *Life Sciences* 26, 2251-2255, 1980
- Pirke K.M., A COMPARISON OF THREE METHODS OF MEASURING TESTOSTERONE IN PLASMA: COMPETITIVE PROTEIN BINDING, RADIOIMMUNOASSAY WITHOUT AND RADIOIMMUNOASSAY INCLUDING THIN LAYER CHROMATOGRAPHY *Acta Endocrinol. (Kbh)* 74, 168-176, 1973
- Pirke K.M. SEARCH FOR ENDOGENOUS GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE IN PERIPHERAL PLASMA *Acta endocrinol. (Kbh)* Suppl. 202, 63-65, 1976
- Pirke K.M., Bofilas I., Sintermann R., Langhammer H., Wolf I., Pabst H.W. RELATIVE CAPILLARY BLOOD FLOW AND LEYDIG CELL FUNCTION IN OLD RATS *Endo* 105, 842- 845, 1979
- Pirke K.M., Krings B., Vogt H-J. FURTHER STUDIES ON HYPOTHALAMIC-PITUITARY-TESTICULAR FUNCTION IN OLD RATS *Acta endocrinol.* 92, 358-369, 1979
- Pirke K.M., Fichter M.M., Lund R., Doerr P. TWENTY-FOUR HOUR SLEEP-WAKE PATTERN OF PLASMA LH IN PATIENTS WITH ANOREXIA NERVOSA *Acta endocrinol.* 92, 193-204, 1979
- Pirke K.M., Fichter M.M., Holsboer H., Kempin W., Weiss W., Wolfram G. 24 h SLEEP WAKE CYCLE OF LH AND CORTISOL DURING STARVATION IN HEALTHY SUBJECTS AND IN ANOREXIA NERVOSA *Acta endocrinol. (Kbh)* Suppl. 246, 83-84, 1982
- Pirke K.M., Baranao J.L., Calandra R., Lüthy I., Spyra B. INFLUENCE OF STARVATION ON THE DIHYDROTESTOSTERONE-LUTEINIZING HORMONE FEEDBACK IN THE MALE RAT *J. Steroid Biochem.* in press 1982
- Rance N., Wise P.M., Barraclough C.A. NEGATIVE FEEDBACK EFFECTS OF PROGESTERONE CORRELATED WITH CHANGES IN HYPOTHALAMIC NOREPINEPHRINE AND DOPAMINE TURNOVER RATES, MEDIAN EMINENCE LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE, AND PERIPHERAL PLASMA GONADOTROPINS *Endo.* 108, 2194-2199, 1981
- Rance N., Wise P.M., Selmanoff M.K., Barraclough C.A. CATECHOLAMINE TURNOVER RATES IN DISCRETE HYPOTHALAMIC AREAS AND ASSOCIATED CHANGES IN MEDIAN EMINENCE LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE AND SERUM GONADOTROPINS ON PROESTROUS AND DIESTROUS DAY 1. *Endo.* 108, 1795-1802, 1981
- Root A.W., Duckett G.E., IN VIVO AND IN VITRO EFFECTS OF SYNTHETIC LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE (LHRH) UPON SECRETION OF LUTEINIZING HORMONE (LH) AND FOLICLE STIMULATING HORMONE (FSH) IN INTACT AND CASTRATED, FES AND STARVED ADULT MALE RATS *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 144, 30-33, 1973
- Root A.W., Reiter E.O., Duckett G.E., Sweetland M.L. EFFECT OF SHORT-TERM CASTRATION AND STARVATION UPON HYPOTHALAMIC CONTENT OF LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE IN ADULT MALE RATS *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 150, 602-605, 1975
- Rotsztein W.H., Charli J.L., Pattou E., Kordon C. STIMULATION BY DOPAMINE OF LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE (LHRH) RELEASE FROM THE MEDIATE BASAL HYPOTHALAMUS IN MALE RATS *Endo.* 101, 1475- 1483, 1977

- Sarkar D.K., Fink G. GONADOTROPIN RELEASING HORMONE SURGE: POSSIBLE MODULATION THROUGH POSTSYNAPTIC α -ADRENOCEPTORS AND TWO PHARMACOLOGICALLY DISTINCT DOPAMINE RECEPTORS *Endo.* 108, 862-867, 1981
- Scatchard G. THE ATTRACTIONS OF PROTEINS FOR SMALL MOLECULES AND IONS
Annals of The New York Academy of Science, Published by the Academy N.Y. 660-672, 1948
- Siegel R.A., Weidenfeld J., Feldman S., Conforti N., Chowers I. NEURAL PATHWAYS MEDIATING BASAL AND STRESS-INDUCED SECRETION OF LUTEINIZING HORMONE, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE, AND TESTOSTERONE IN THE RAT
Endo. 108, 2302-2307, 1981
- Simpkins J.W., Kalra P.S., Kalra S.P. EFFECTS OF TESTOSTERONE ON CATECHOLAMINE TURNOVER AND LHRH CONTENTS IN THE BASAL HYPOTHALAMUS AND PREOPTIC AREA
Neuroendocrinology 30, 94-100, 1980
- Smith E.R., Damassa D.A., Davidson J.M. FEEDBACK REGULATION AND MALE PUBERTY: TESTOSTERONE-LUTEINIZING HORMONE RELATIONSHIPS IN THE DEVELOPING RAT
Endo. 101, 173-180, 1977
- Solano A., Garcia-Vela A., Catt K.J., Dufau M.L. MODULATION OF SERUM AND PITUITARY LUTEINIZING HORMONE BIOACTIVITY BY ANDROGEN IN THE RAT
Endo. 106, 1941-1948, 1980
- Starke K., Montel H. INVOLVEMENT OF α -RECEPTORS IN CLONIDINE-INDUCED INHIBITION OF TRANSMITTER RELEASE FROM CENTRAL MONOAMINE NEURONS
Neuropharmacology 12, 1073-1080, 1973
- Starke K. REGULATION OF NORADRENALINE RELEASE BY PRESYNAPTIC RECEPTOR SYSTEMS
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 77, 1-124, 1977
- Starke K. α -ADRENOCEPTOR SUBCLASSIFICATION
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 88, 199-236, 1981
- Swensson T.H., Bunney B.S., Aghajanian G.K. INHIBITION OF BOTH NORADRENERGIC AND SEROTONERGIC NEURONS IN BRAIN BY α -ADRENERGIC AGONISTS
Brain Research 92, 291-306, 1975
- Thomä H. ANOREXIA NERVOSA. GESCHICHTE, KLINIK UND THEORIEN DER PUBERTÄTSMAGER-SUCHT Verlag Huber, Bern-Klett, Stuttgart 1961
- Trendelenburg U. A KINETIC ANALYSIS OF THE EXTRANEURONAL UPTAKE AND METABOLISM OF CATECHOLAMINES
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 87, 33-113, 1980
- U'Prichard D.C., Snyder S.H. GUANYL NUCLEOTIDE INFLUENCES ON 3 H-LIGAND BINDING TO α -NORADRENERGIC RECEPTORS IN CALF BRAIN MEMBRANES
J. Biol. Chem. 253, 3444-3452, 1978
- U'Prichard D.C., Snyder S.H. DISTINCT α -NORADRENERGIC RECEPTORS DIFFERENTIATED BY BINDING AND PHYSIOLOGICAL RELATIONSHIPS
Life Sciences 24, 79-88, 1979
- Vaughan M.K., Blask D.E., Johnson L.Y., Reiter R.J. THE EFFECT OF SUBCUTANEOUS INJECTIONS OF MELATONIN ARGININE VASOTOCIN. NAD RELATED PEPTIDES ON PITUITARY AND PLASMA LEVELS OF LUTEINIZING HORMONE, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE, AND PROLACTIN IN CASTRATED ADULT MALE RATS
Endo. 104, 212-217, 1979
- Wheaton J.E., McCann S.M. LUTEINIZING HORMONE RELEASING HORMONE IN PERIPHERAL PLASMA AND HYPOTHALAMUS OF NORMAL AND OVARECTOMIZED RATS
Endo. 20, 296-310, 1976
- Wilkinson M., Herdon H., Pearce M., Wilson C. PRECOCIOUS PUBERTY AND CHANGES IN α - AND β -ADRENERGIC RECEPTORS IN THE HYPOTHALAMUS AND CEREBRAL CORTEX OF IMMATURE FEMALE RATS
Brain Research 167, 195-199, 1979

- Wilkinson M., Herdon H., Pearce M., Wilson C. RADIOLIGAND BINDING STUDIES ON HYPOTHALAMIC NORADRENERGIC RECEPTORS DURING THE ESTROUS CYCLE OR AFTER STEROID INJECTION IN OVARECTOMIZED RATS Brain Research 168,652-655,1979
- Wilkinson M., Herdon H., Wilson C.A. GONADAL STEROID MODIFICATION OF ADRENERGIC AND OPIATE RECEPTOR BINDING IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM aus "Steroid Hormone Regulation of the Brain" eds. Fuxe K., Gustafsson J.A. Wetterberg L. Pergamon Press 253-263, 1981
- Young W.S., Kuhar M.J. NORADRENERGIC α_1 AND α_2 RECEPTORS: LIGHT MICROSCOPIC AUTORADIOGRAPHIC LOCALIZATION Proc.Natl.Acad. Sci. USA Neurobiology 77, 1696-1700, 1980

Abkürzungsverzeichnis.

α -MT	alpha-Methyl-para-Tyrosin
DA	Dopamin
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
DOPS	3,4-Dihydroxyphenylserin
hCG	human chorionic gonadotropine
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
LH	Luteinisierendes Hormon
LHRH	Luteinisierendes Hormon Releasing Hormon
NA	Noradrenalin
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
s.c.	subcutan
SEM	Standard Error of the Mean, mittlere Standard- abweichung

LEBENS LAUF

Am 11. Mai 1949 wurde ich als zweites Kind der Eheleute W. J. Sramota und K-M. Sramota, geb. Meuffels in München geboren. Von September 1955 bis September 1960 besuchte ich die Volksschule Ottobrunn und anschließend bis September 1970 das Städtische Luisengymnasium in München.

Im Oktober 1970 immatrikulierte ich mich an der Ludwigs - Maximilians - Universität München und belegte bis September 1972 die Fächer Chemie und Physik Lehramt.

Im Oktober 1972 begann ich das Biologiestudium an der Ludwigs - Maximilians - Universität München. Nach der Diplomhauptprüfung im Februar 1977 in den Fächern Mikrobiologie, Genetik und Biochemie fertigte ich bis Mai 1978 meine Diplomarbeit bei Prof. Dr. med. H. Cleve an. Das Thema der Arbeit war: "Rezeptoren der Plasmamembran von menschlichen B- und T-Lymphoblasten für fünf radioaktiv markierte Lektine".

Von August 1978 bis Juni 1979 arbeitete ich am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität München, Abteilung Virologie mit Influenza-C-Viren auf primären Zellkulturen.

Seit Mai 1979 bin ich mit Günter Spyra verheiratet.

Seit August 1979 arbeite ich unter der Anleitung von Dr.med. habil. K.M. Pirke am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abteilung Klinische Chemie an der vorliegenden Dissertation.

Abkürzungsverzeichnis.

α -MT	alpha-Methyl-para-Tyrosin
DA	Dopamin
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
DOPS	3,4-Dihydroxyphenylserin
hCG	human chorionic gonadotropine
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
LH	Luteinisierendes Hormon
LHRH	Luteinisierendes Hormon Releasing Hormon
NA	Noradrenalin
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
s.c.	subcutan
SEM	Standard Error of the Mean, mittlere Standard- abweichung

LEBENS LAUF

Am 11. Mai 1949 wurde ich als zweites Kind der Eheleute W. J. Sramota und K-M. Sramota, geb. Meuffels in München geboren. Von September 1955 bis September 1960 besuchte ich die Volksschule Ottobrunn und anschließend bis September 1970 das Städtische Luisengymnasium in München.

Im Oktober 1970 immatrikulierte ich mich an der Ludwigs - Maximilians - Universität München und belegte bis September 1972 die Fächer Chemie und Physik Lehramt.

Im Oktober 1972 begann ich das Biologiestudium an der Ludwigs - Maximilians - Universität München. Nach der Diplomhauptprüfung im Februar 1977 in den Fächern Mikrobiologie, Genetik und Biochemie fertigte ich bis Mai 1978 meine Diplomarbeit bei Prof. Dr. med. H. Cleve an. Das Thema der Arbeit war: "Rezeptoren der Plasmamembran von menschlichen B- und T-Lymphoblasten für fünf radioaktiv markierte Lektine".

Von August 1978 bis Juni 1979 arbeitete ich am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität München, Abteilung Virologie mit Influenza-C-Viren auf primären Zellkulturen.

Seit Mai 1979 bin ich mit Günter Spyra verheiratet.

Seit August 1979 arbeite ich unter der Anleitung von Dr.med. habil. K.M. Pirke am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abteilung Klinische Chemie an der vorliegenden Dissertation.

Ich versichere, die vorliegende Arbeit selbstständig
angefertigt und keine anderen als die angegebenen
Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

München, den 1. Juni 1982

